

Du Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences de Lyon.

L'ÉVOLUTION DES STRUCTURES NUCLÉAIRES DANS  
L'OVOCÉNÈSE DE CAENORHABDITIS ELEGANS MAUPAS 1900\*.

Par

V. NIGON et J. BRUN.

Avec 13 figures dans le texte.

(*Ein eingangen am 8. Dezember 1954.*)

Sommaire.

Introduction . . . . .	129
Matériel . . . . .	131
La prophase méiotique après fixations et colorations classiques . . . . .	133
I. Les premiers stades . . . . .	133
II. L'évolution vers la diacinese . . . . .	136
1. La formation des figures en V . . . . .	136
2. L'évolution des tétrades . . . . .	140
III. La spermatogenèse . . . . .	144
IV. Conclusions . . . . .	144
La structure du noyau vivant et l'action des fixateurs . . . . .	147
I. Les noyaux dans la gonade vivante . . . . .	147
II. La structure des noyaux dans la gonade fixée . . . . .	153
III. Effets de traitements postérieurs à la fixation . . . . .	157
Discussion . . . . .	160
Résumé . . . . .	167
Bibliographie . . . . .	168

Introduction.

Dès les plus anciennes études cytologiques, des difficultés considérables devaient se révéler dans l'analyse de certains processus nucléaires, dues à la fidélité incertaine des méthodes et à la sensibilité extrême de diverses structures cellulaires à l'égard de toute action extérieure. Des études classiques, celles de BĚLAŘ (1929) en particulier, semblaient avoir fait justice des hésitations qui en résultait. Toutefois, ces examens critiques n'ayant envisagé qu'une partie du cycle chromosomique, plusieurs travaux récents ont pu, à la lumière des résultats fournis par des méthodes modernes, soulever à nouveau cette sorte de question préalable. C'est ainsi que, parmi d'autres, les études de BRUMBERG et LARIONOW (1946), celles de MAKAROV (1953), de RIS et MIRSKY (1948), montrent l'existence de structures nucléaires homogènes là où nous étions accoutumés à l'observation de figures chromosomiques aux formes définies et très caractéristiques. Un intérêt très général s'attache

\* Synonyme: *Rhabditis elegans* (Maupas) 1900.

à ces observations dont beaucoup portent sur des passages divers du cycle méiotique et posent, pour son interprétation, de graves problèmes méthodologiques. L'étude d'une gónade fonctionnelle révèle, en effet, la présence d'une grande variété de structures nucléaires. Entre ces figures, on peut établir des correspondances morphologiques que l'on traduit tout naturellement dans un concept d'homologie. Le premier problème consiste à s'assurer des fondements auxquels répondent ces homologies. De ce point de vue, deux attitudes ont pu être adoptées par les auteurs.

La majorité des interprétations classiques ont été fondées sur l'opinion que les structures visibles après fixation ne sauraient être différentes de celles qui existaient dans le noyau vivant; les auteurs s'accordent à reconnaître, toutefois, qu'à l'échelle de l'observation microscopique, une discordance limitée reste inévitable entre structure vivante et structure fixée. Dans cette hypothèse, les homologies visibles sont évidemment le témoignage direct d'une filiation entre des structures vivantes très semblables à celles qui peuvent être observées sur préparation fixée.

En revanche, si la fidélité de la fixation est suspectée, la succession des figures observables ne traduira plus de façon aussi simple les processus qui ont leur siège dans le noyau vivant. Il reste évident, malgré tout, que l'étude des préparations fixées demeure une source d'informations parfaitement valables sur le déroulement des processus vitaux. Ainsi l'aspect constant et reproductible des figures, obtenues et observées dans des conditions données, atteste l'existence, dans les noyaux vivants correspondants, de structures et de propriétés invariables: aux mêmes influences, le noyau répond d'une façon constante. En outre, dans certains cas où l'ordre de sériation des figures peut être déduit directement à partir de leurs positions réciproques, indépendamment des considérations d'homologie, le caractère continu de leur évolution s'impose: cette continuité resterait incompréhensible si elle ne transposait une continuité parallèle dans l'évolution du noyau vivant. En revanche, et c'est sur ce point que la seconde hypothèse entraîne les conséquences les plus lourdes, l'interprétation complète de la structure et de l'évolution du noyau vivant requiert, cette fois, un examen détaillé des transformations que subit la structure nucléaire au cours de la fixation. Les homologies établies entre structures fixées ne traduisent plus que d'une façon indirecte des correspondances dont l'existence et la nature objectives doivent être recherchées au niveau du noyau vivant. C'est seulement après cet effort de transposition que la signification vitale des processus étudiés pourrait être comprise.

Quelle que soit la position que l'avenir conduise à retenir dans ce débat, il paraît évident qu'on ne saurait négliger l'étude des transformations de la cellule au cours de la fixation. La discordance entre les deux

attitudes évoquées se concentre en effet sur l'appréciation d'un degré dans l'importance de ces transformations. Tous les auteurs s'accordent à penser qu'elles existent. Mais, pour les uns, leur importance, à l'échelle de l'observation microscopique, serait faible voire négligeable. Les autres, au contraire, admettent qu'elles sont considérables et imposent une nouvelle évaluation de nos connaissances sur cette question.

Des travaux antérieurs avaient permis d'observer diverses altérations dans la gamétogénèse de *Caenorhabditis elegans* (NIGON 1949, DOUGHERTY et NIGON 1953). Des recherches poursuivies en vue d'interpréter ces phénomènes devaient nous conduire à un nouvel examen des figures méiotiques sur ce matériel qui, par ailleurs, se montrait exceptionnellement favorable. La combinaison des techniques classiques avec des méthodes faisant largement appel à l'observation vitale nous montrait rapidement l'existence de certaines discordances entre les résultats qu'elles fournissent. La poursuite de cette étude nous a conduit à des conclusions qui, provisoires et imparfaites, devront cependant servir de point de départ pour de nouveaux travaux.

Nous examinerons, tout d'abord, quelques caractéristiques générales de notre objet d'étude ainsi que les principales méthodes classiques mises en œuvre pour y étudier la méiose. Nous obtiendrons ainsi un tableau de ce phénomène tel qu'il résulte de l'étude de préparations fixées. Nous décrirons ensuite les données fournies par l'observation vitale, données que nous essayerons d'interpréter en étudiant, point par point, l'action exercée sur les structures nucléaires par la succession de traitements que comportent les méthodes cytologiques. Une discussion d'ensemble nous permettra enfin de comparer nos observations à celles d'autres auteurs et de formuler quelques conclusions.

#### Matériel.

*Caenorhabditis elegans* est un Nématode libre du sol, long d'un millimètre environ à l'état adulte, facile à élever sur des milieux gélosés: la souche étudiée est conservée au laboratoire depuis 1944. L'élevage des animaux a été pratiqué en respectant des conditions standard de milieu, de température, etc. (NIGON 1949), de façon à éliminer autant que possible l'influence éventuelle des fluctuations d'origine externe.

Tous les individus, à l'exception d'une faible proportion de mâles (0,2% en moyenne), appartiennent au même type sexuel: il s'agit en effet d'hermaphrodites autogames. Leur gonade (fig. 1) est formée par l'ensemble de deux tubes, se terminant en cul de sac à l'une de leurs extrémités, se rejoignant à l'autre pour communiquer directement avec l'ouverture génitale. Les premiers gamètes formés dans cette gonade évoluent en spermatozoïdes. Ceux-ci s'accumulent dans la partie terminale du tube génital où ils féconderont les ovocytes qui apparaîtront ensuite: l'ovogénèse remplacera alors de façon définitive la spermatogenèse initiale. À partir de ce moment, l'animal ne se distingue plus d'une véritable femelle.

Lorsqu'on parcourt l'un ou l'autre des tubes génitaux d'un individu fixé et coloré, depuis le cul de sac terminal jusqu'à la vulve, on rencontre les stades

successifs de la différenciation des gamètes. Les transformations nucléaires, qui caractérisent l'évolution des ovocytes, peuvent être aisément suivies grâce au synchronisme auquel obéissent les modifications subies par des groupes d'ovocytes voisins: c'est ainsi que l'on peut diviser la gonade, suivant sa longueur, en zones successives dans chacune desquelles les noyaux se trouvent à des stades analogues de leur évolution. Grossièrement on peut distinguer (fig. 1):

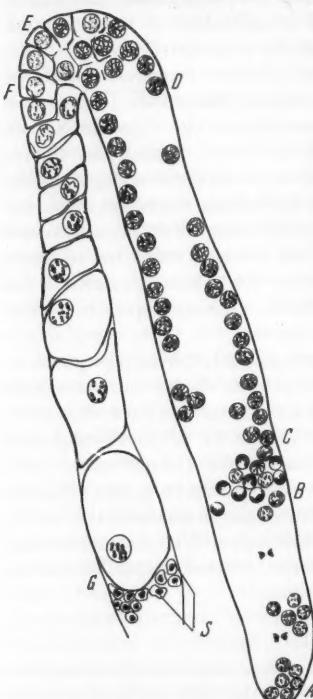


Fig. 1. Gonade de *Caenorhabditis elegans* (semi-schématique,  $\times 250$ ). Répartition des phases caractéristiques de l'ovogénèse. *A* à *B*, Zone de multiplication des gones; *B* à *C*, Zone de synapsis; *C* à *D*, Zone du pachytène; *D* à *G*, Zone d'évolution du pachytène à la diacinese; *E*, stade dispersé; *F*, Formation des figures en V; *G*, Diacine; *S*, Spermatozoïdes dans le réceptacle séminal. Au delà, Utérus.

respectives des zones de multiplication, jointes à celles que comporte toujours l'interprétation des premières figures de la prophase méiotique, souvent confuses et dont la propension à fournir des aspects artificiels est bien connue, ne nous ont pas permis, jusqu'à présent, d'analyser les processus de ce stade avec toute la précision désirable. Par contre, ces difficultés

— dans le cul de sac ovarien, une zone de multiplication des gones (*A* à *B*).

— puis, une zone brève dans laquelle la condensation de la chromatine permet de reconnaître un synapsis typique (*B* à *C*).

— ensuite, une assez grande longueur de la gonade dans laquelle les chromosomes prennent l'aspect caractéristique des anses pachyténiques (*C* à *D*). A ce niveau les cellules reproductrices sont disposées, contre la paroi de la gonade, en une couche unique d'aspect épithélioïde. L'axe du tube est alors occupé par une masse cytoplasmique dépourvue de noyaux: le rachis.

— enfin, dans une zone terminale se produit un accroissement cytoplasmique rapide (*D* à *G*), tandis que les noyaux passent par les divers stades qui mènent de la forme pachytène à la structure diacinétique (*E*, *F*, *G*).

— après quoi, dans l'utérus, les ovocytes sont fécondés par les spermatozoïdes (*S*), subissent leurs divisions de maturation et commencent à se segmenter avant d'être rejettés à l'extérieur.

Le synchronisme qui conduit à cette répartition en zones homogènes n'est cependant pas absolu. De proche en proche, on reconnaît les termes successifs d'une sériation continue; les limites des zones précédentes ne sauraient donc être définies de façon rigide. D'autant plus que le passage progressif d'une zone à la suivante entraîne parfois l'association, en un même point, de figures caractérisant plusieurs moments de cette évolution.

Cette confusion est particulièrement nette au début de la gonade, aux limites du synapsis, du pachytène. Ces difficultés, jointes à celles que comporte toujours l'interprétation des premières figures de la prophase méiotique, souvent confuses et dont la propension à fournir des aspects artificiels est bien connue, ne nous ont pas permis, jusqu'à présent, d'analyser les processus de ce stade avec toute la précision désirable. Par contre, ces difficultés

disparaissent au niveau de la zone terminale de l'ovaire. Les ovocytes y occupent, en effet, toute la largeur du tube ovarien dans lequel ils se disposent en une série linéaire de cellules dont les dimensions croissent régulièrement. Les variations de taille permettent de vérifier, sans ambiguïté, que l'ordre de succession des ovocytes correspond à l'état de différenciation plus ou moins avancé des cellules considérées. Celles qui touchent la zone du pachytène sont les plus petites et montrent des figures nucléaires apparentées à celles qui règnent dans la fin de la zone pachytène; tandis qu'à l'autre extrémité, au contact de l'utérus, se trouvent les ovocytes de grande taille, en diacinese, prêts à être fécondés. Tout au plus, une hésitation peut elle se présenter au début de cette sériation, lorsque les cellules n'ont pas acquis toute leur largeur et se trouvent encore à plusieurs de front. Une autre difficulté, propre à ce niveau, tient au petit nombre de cellules impliquées dans une sériation, généralement inférieur à une vingtaine. Or l'évolution nucléaire de ces stades est complexe et rapide. Il en résulte qu'une seule série ne montrera pas, en général, la totalité des figures caractéristiques. Il sera nécessaire, pour acquérir une vue complète, de confronter les observations fournies par plusieurs individus. Le regroupement des données multiples ainsi obtenues n'offre guère de difficultés, grâce aux nombreux points de repère que fournit cette évolution nucléaire rapide.

Ainsi la gonade de *Caenorhabditis elegans* qui, par sa structure même, confère une grande sécurité dans l'établissement des sériations, est particulièrement appropriée à l'analyse des modifications rapides que subissent les ovocytes en fin de différenciation.

#### La prophase méiotique après fixations et colorations classiques.

La technique la plus constamment mise en œuvre consistait à disséquer les gonades et à les fixer en frottis sur une lamelle. Divers fixateurs classiques ont été utilisés: Flemming, formol, Zenker, sublimé acétique. La coloration a été effectuée *in toto* par la méthode de Feulgen. Le détail de cette technique a été exposé dans une publication antérieure (NICON 1949). A titre de contrôle et pour l'étude de formations Feulgen-négatives, nous avons effectué des coupes après double inclusion à la géllose-paraffine et coloré au vert de méthyle-pyronine.

#### *I. Les premiers stades.*

Dans la zone de multiplication (fig. 2a), des noyaux, très resserrés, dont le diamètre est de l'ordre de  $5\mu$ , occupent la majeure partie du volume cellulaire. La chromatine s'y présente sous des formes diverses. Le plus souvent la structure correspond à un aspect quiescent caractéristique. On reconnaît cependant des figures de division peu nombreuses, prométaphases ou anaphases. Dans les prométaphases, les chromosomes présentent l'aspect de petits bâtonnets, faiblement incurvés, très intensément colorés. Malgré les superpositions qu'entraînent les faibles dimensions du noyau, nous avons pu vérifier à nouveau la présence de 12 chromosomes.

A l'extrémité de la zone de multiplication, la concentration de la chromatine à l'un des pôles du noyau permet de reconnaître le stade synapsis (fig. 2b).

La zone des noyaux pachytènes qui suit, occupe environ le tiers de la longueur de la gonade: elle y constitue une unité fortement distincte

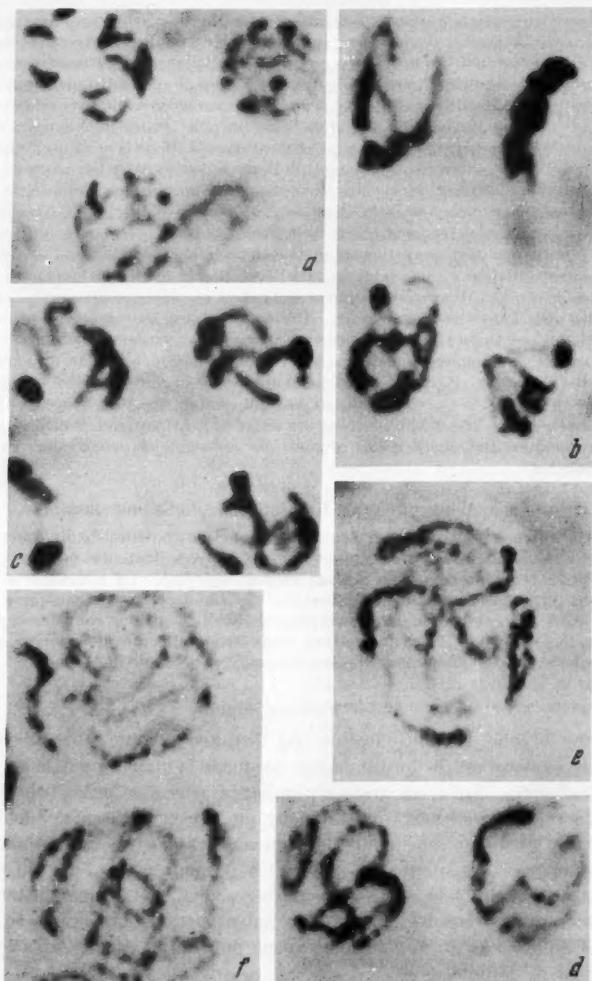


Fig. 2a—f. *Caenorhabditis elegans*: préméiose ovogénétique après fixations et colorations classiques (continuée dans les figures 3 à 6). Sublimé acétique — Feulgen. a, b, d—f  $\times 3870$ ; c  $\times 3150$ . a Zone de multiplication des gones. En haut et à gauche, noyau prométabolique. b Synapsis. Diverses figures de polarisation chromatinnienne. c—f Pachytème. c Début du pachytème, chromosome hétéropycnotique très condensé. d Pachytème moyen; chromosomes hétéropycnotiques distincts. e, f Pachytème avancé: dédoublement des anses chromosomiques.

par la constance relative de la coloration, de la forme, de la taille des chromosomes disposés en anses très caractéristiques, nettement séparées, au nombre haploïde de six éléments. Cependant, sous cette apparence unité, se dissimule une évolution très progressive.

Au sortir du synapsis, les noyaux pachytènes dont le diamètre est toujours voisin de  $5\text{ }\mu$  contiennent six chromosomes nettement plus allongés que les chromosomes métaphasiques de la zone de multiplication (fig. 2c). Ils sont appliqués contre la paroi nucléaire, largement incurvés, formant rarement une boucle. Certains noyaux contiennent alors un chromosome hétéropycnotique. Nettement plus court, plus épais, plus intensément coloré que les cinq autres éléments, ce chromosome apparaît souvent scindé dans sa longueur, la scissure étant parfois limitée aux extrémités.

En même temps que le cytoplasme s'accroît lentement, séparant plus nettement les noyaux, ceux-ci grandissent jusqu'à atteindre le diamètre de  $7\text{ }\mu$  et les chromosomes s'allongent (fig. 2d). Chacun d'entre eux est, au début, ponctué par un nombre variable de chromatides. Puis leur colorabilité s'atténue tandis que l'élément hétéropycnotique devient semblable aux autres. Certains chromosomes laissent apparaître des dédoublements à leurs extrémités ou en leur milieu (fig. 2e et f). De tels aspects sont parfois d'une interprétation délicate car ils peuvent résulter d'un accollement accidentel de filaments en réalité indépendants. Certaines figures, cependant, ne laissent aucune place au doute.

Ce dédoublement au cours du pachytène s'est opéré de façon beaucoup plus complète dans une préparation unique, entièrement normale par ailleurs. Dans cette préparation, dès le niveau qui voit se raréfier les éléments hétéropycnotiques, tous les chromosomes de la plupart des noyaux présentent une constitution nettement dédoublée (fig. 3a—c). Le plus souvent, l'anse pachytène classique y apparaît sous l'aspect de deux filaments, courant parallèlement, dont la correspondance se trouve soulignée par la présence de chromatides homologues. Parfois,

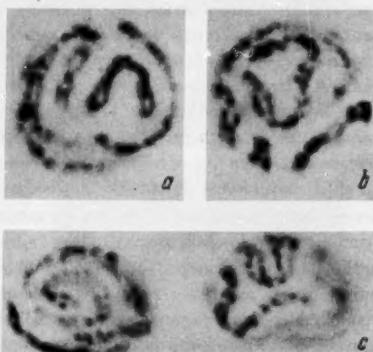


Fig. 3a—c. *Caenorhabditis elegans*: prémeiose oogénétique. Pachytène moyen montrant une constitution nettement dédoublée et anormale de tous les chromosomes. Sublimé acétique — Feulgen.  $\times 3870$ .

ces filaments se rapprochent et deviennent coalescents, traduisant peut-être une structure en spirale.

D'une façon générale, à la fin de la zone pachytène, les enchevêtements et les superpositions qui résultent de l'évolution des formes chromosomiques, associés à la diminution concomitante de la colorabilité, rendent de plus en plus confuse l'individualité de chacun des chromosomes.

### *II. L'évolution vers la diacinèse.*

L'ensemble des étapes précédentes occupe environ la moitié de la longueur du tube ovarien et représente un nombre de noyaux que l'on peut estimer de l'ordre de 500 par gonade.

La croissance cytoplasmique s'accélère ensuite, donnant naissance bientôt à la disposition des ovocytes en file. Celle-ci comporte une vingtaine de cellules seulement; elle occupe cependant la moitié environ du volume de la gonade. Dans les noyaux se succèdent les structures chromosomiques qui conduisent à la diacinèse. Les formes particulières qu'elles comportent dans cette espèce nous obligent à une certaine prudence dans l'assimilation de ces structures à celles que de nombreuses études ont rendues classiques. Pour éviter toute confusion, il nous a paru préférable d'utiliser ici une terminologie particulière, à signification purement descriptive. Nous verrons qu'à la fin d'une première phase, les chromosomes prennent l'aspect de ce que nous avons appelé les figures en V. Dans une seconde période, les figures en V sont remplacées, successivement, par les tétrades puis par les bivalents.

#### *1<sup>e</sup> La formation des figures en V.*

A partir des noyaux pachytènes terminaux, et suivant les individus, l'évolution vers la formation des figures en V pourra s'effectuer par deux voies différentes. L'une, qui paraît la plus fréquemment suivie, comporte d'abord un accroissement dans la complexité des structures tel qu'il interdit l'établissement d'homologies précises: la chromatine passe alors par un aspect que nous avons désigné sous le nom de stade dispersé. Chez les individus jeunes au contraire, encore au début de leur période d'ovogénèse, le passage s'effectue plus directement des chromosomes pachytènes aux figures en V: le stade dispersé n'existe pour ainsi dire pas. Nous examinerons successivement chacune de ces deux modalités.

*a) Passage par un stade dispersé (fig. 4a—g).* L'accentuation du processus d'élargissement, de dédoublement et de décoloration chromosomique, visible à la fin du stade pachytène, a déterminé la formation d'un lacis de filaments granuleux, peu colorables et dans lesquels l'individualité de chacun des constituants disparaît entièrement. Les filaments eux-mêmes s'estompent à certains niveaux, ne laissant subsister alors qu'un système de granulations (fig. 4a).

Dans les noyaux les plus avancés, la répartition de la chromatine devient moins confuse. Elle se concentre en un certain nombre d'unités, plus ou moins bien délimitées (fig. 4 b, c). La forme de chacune d'elles se simplifie progressivement, tandis que sa colorabilité s'accroît. D'un

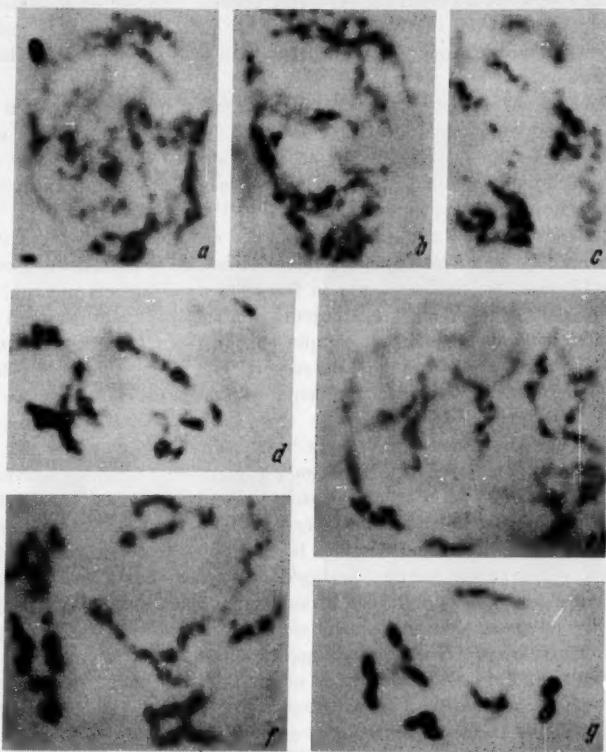


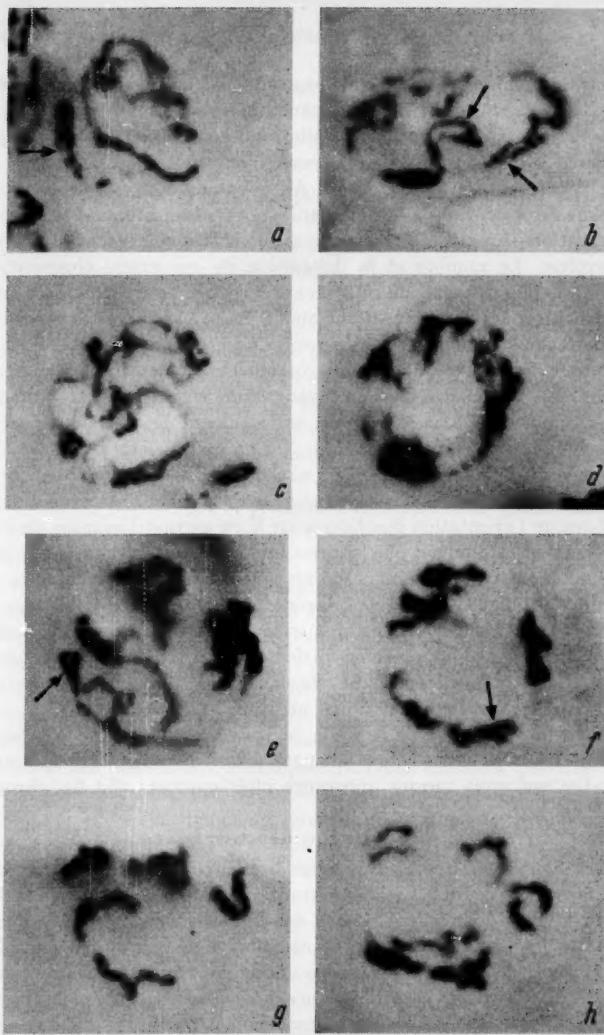
Fig. 4a—g. *Caenorhabditis elegans*: prémélose ovogénétique. Evolution vers la diacinesse avec passage par un stade dispersé. a, b Passage du pachytène au stade dispersé. Répartition confuse de la chromatine. c Fin du stade dispersé; isolement d'unités chromatinaires. d Passage du stade dispersé aux figures en V. Condensation croissante de la chromatine. e, f Début de diacinesse. Structures initiales des figures en V (noyaux étalés). g Noyer montrant des figures en V typiques sous divers aspects. — Les figures 2e et 4a—d, g représentent, dans l'ordre, la succession des structures nucléaires observée dans une même gonade. Sublimé acétique — Feulgen.  $\times 3870$ .

aspect d'abord complexe, on voit surgir des filaments qui se raccourcissent, ponctués d'épaissements dont le nombre ira en décroissant à mesure que la longueur des filaments diminuera (fig. 4d).

Plus tard, chacun de ces filaments montrera un coude brusque en un point voisin du milieu de sa longueur, d'où le nom de figure en V que nous avons donné à ce stade. A partir de ce coude, les deux branches du filament peuvent être droites ou contournées, se rapprocher pour former un angle aigu ou, au contraire, s'écartez pour se disposer presque dans le prolongement l'une de l'autre (fig. 4e, f). Finalement chaque branche ne présentera plus que deux ou trois ponctuations bien colorables (fig. 4g).

Dans un même noyau, on constate en général que les figures en V sont en nombre haploïde de six éléments. Cependant, à côté de ces figures en V, nous avons souvent observé dans les stades précoce de cette évolution des filaments rectilignes plus courts, comportant un nombre de granulations moins élevé (fig. 6b, chromosomes a et b). Leur structure nous a conduit à assimiler ces éléments à l'une des branches de la figure en V qui se serait détachée de sa partenaire. Cette interprétation est confirmée par le fait que, dans de tels noyaux, le nombre des filaments en V est toujours inférieur à six, chiffre que l'on retrouve généralement si l'on compte chacun des éléments rectilignes pour une demi-unité. Les nombres respectifs de figures en V complètes et de branches isolées sont d'ailleurs variables: au maximum nous avons rencontré neuf composants chromosomiques dans un même noyau, soit trois figures en V et six branches isolées.

b) *Formation directe de la figure en V* (fig. 5a—h). Chez les individus jeunes, le passage de la structure pachytène à la figure en V s'effectue plus directement. Les stades dispersés sont absents ou ne sont représentés que par des noyaux dans lesquels la chromatine conserve une distribution relativement simple, partagée entre des unités restant bien distinctes, bien que leurs formes deviennent complexes (fig. 5c). Presque aussitôt on passe aux noyaux qui contiennent les figures en V. Dans les noyaux intermédiaires, les grains de chromatine sont ramassés en plusieurs groupes, généralement au nombre de six; chacun d'entre eux correspond sans doute à un chromosome pachytène (fig. 5d). Parfois on distingue, dans ces amas, la présence de deux séries linéaires et contigües de grains chromatiques. A l'une des extrémités de la figure, ces deux lignes sont souvent indistinctes et fusionnées en une masse unique; à l'autre extrémité par contre, elles sont délimitées et se séparent, faiblement, mais d'une façon indéniable. L'ensemble de la figure présente alors l'aspect d'un V aux branches si étroitement refermées qu'elles peuvent être distinguées, seulement, à leur extrémité distale (Fig. 5e et f). Certaines préparations, dans lesquelles un étalement des noyaux a mieux séparé les composantes de ces figures, montrent aussi des bâtonnets allongés, écartés en leur milieu et reliés entre eux par leurs extrémités: l'ensemble prend l'aspect d'un fusée (fig. 5a et b). L'existence de ces formations conduit à interpréter les figures en V comme



**Fig. 5a-h.** *Caenorhabditis elegans*: pré-mélose ovogénétique. Evolution du pachytène à la diacénèse. Formation directe des figures en V. a Fin de pachytène. La flèche montre le dédoublement longitudinal d'un chromosome donnant naissance à une figure en fuseau. b Stade plus avancé: les flèches montrent des figures chromatiques intermédiaires entre l'anse pachytène et la figure en V. c, d Stades plus avancés. Unités chromatiques encore distinctes. e, f Passage aux figures en V. Les flèches signalent les extrémités disjointes, aspects initiaux de la figure en V. g, h Figures en V typiques. — Les photos a, c-h représentent la succession des figures observées dans une seule gonade. Leur ordre de succession a été respecté. Sublimé acétique — Feulgen.  $\times 3870$ .

correspondant au dédoublement longitudinal d'un chromosome pachytène. Les constituants de ce chromosome s'écartent au moment où ils se raccourcissent et restent ensuite soudés entre eux par leurs extrémités ou, le plus souvent, par une seule d'entre elles.

c) *Structure des figures en V.* Au début de son individualisation, chacune des branches de la figure en V peut porter un nombre élevé de ponctuations chromophiles homologues aux chromatères du chromosome pachytène. Le nombre et la disposition de ces grains chromophiles permet, le plus souvent, de constater une certaine correspondance entre les structures des deux bras d'une même figure en V: parfois cependant les deux bras sont nettement asymétriques. Dans la suite de cette évolution, le nombre des grains diminuera rapidement. L'ensemble de ces observations s'inscrit en faveur d'une signification très relative des chromatères dont le nombre varie suivant le stade nucléaire et selon l'influence des manipulations. On ne saurait leur attribuer, chez *Caenorhabditis elegans*, la valeur de structures constantes dont le nombre et la disposition seraient caractéristiques de chacun des chromosomes.

Lorsque l'orientation des figures en V en permet l'examen de face, on observe constamment que les deux bras se réunissent par une de leurs extrémités ou par un point situé au voisinage immédiat de cette extrémité. Le plus souvent, la zone de rencontre est peu colorée. Lorsqu'elle est assez chromophile, on constate parfois l'existence d'une petite traînée latérale qui donne l'impression d'un dédoublement longitudinal s'opérant au niveau de la jonction (fig. 6a, chromosome a): il s'agit là, cependant, d'un aspect rare, fugitif et d'une analyse difficile.

Dans un seul noyau de ce stade, nous avons pu observer la présence d'une tétrade en croix à bras allongés, très différente, dans sa forme, de celles que nous verrons apparaître ultérieurement (fig. 6a, chromosome b).

## 2. L'évolution des tétrades.

Les figures en V sont caractérisées par la présence de deux bras seulement. Au cours des stades suivants, ceux-ci pourront se dédoubler à leur tour et donner naissance à des formations pourvues de quatre éléments, les tétrades. Cette transformation va de pair avec une condensation générale de la structure chromosomique qui s'accentuera pour aboutir aux bivalents caractéristiques de la diacinese terminale.

Les diverses phases de cette évolution à partir des figures en V présentent quelques variantes. Nous examinerons, d'abord, la formation et l'évolution d'un type de tétrade commun, la tétrade en croix. L'examen des autres formes de tétrades nous permettra ensuite d'apporter à la description quelques précisions supplémentaires.

a) *La formation des tétrades en croix.* La condensation des figures en V se poursuivant, le nombre des grains sur chaque bras se réduit

à deux, la longueur de ces bras diminue d'un tiers environ et leur colorabilité augmente. L'angle qu'ils forment entre eux finit de s'ouvrir et ils se placent à peu près dans le prolongement l'un de l'autre. C'est à ce moment que les signes d'un dédoublement longitudinal, restés discrets et incertains jusqu'alors, apparaissent sans ambiguïté au niveau des ponctuations, dans les figures favorablement orientées.

Au centre de la figure, dans la région chromophobe, au niveau de laquelle se réunissent les deux bras, on distingue souvent une granulation chromatique de petite taille. Parfois, ce point chromophile se trouve déjeté latéralement, soulignant ainsi un dédoublement dont nous avons déjà signalé l'existence précédemment. Certaines préparations enfin montrent la présence, en cet endroit, de deux points chromatophiles disposés symétriquement de part et d'autre de l'axe longitudinal de l'ensemble (fig. 6b, chromosome c). Ainsi se dessine, à travers une série de formes intermédiaires, l'aspect d'une figure en croix comportant quatre bras (fig. 6d et f). Deux d'entre eux sont longs et marqués généralement, chacun, par la présence d'un ou de deux grains fissurés, intensément colorés: leur position correspond, sans doute, à celle des branches de la figure en V primitive. Les deux autres bras sont beaucoup plus courts, réduits d'abord à deux grains chromatophiles situés de part et d'autre de l'axe longitudinal de la figure. Le point de rencontre des chromatides, qui correspond au niveau le plus étroit dans la figure en V, marque désormais la région la plus large. Dans certaines tétrades, les bras transversaux se sont allongés et chargés de chromatine, tandis que les bras longitudinaux se sont raccourcis et simplifiés. Un dédoublement apparaît ensuite dans la chromatine des bras transversaux dont la fissuration est désormais évidente, moins nette toutefois que celle des bras longitudinaux (fig. 6d, chromosome a). A l'extrême, la figure peut prendre une allure symétrique qui interdit de distinguer entre bras transversaux et longitudinaux. Ce sont là les aspects divers, mais classiques, de la tétrade en croix décrite par de nombreux auteurs.

Bientôt les tétrades seront remplacées par des bivalents (fig. 6g). Tandis que dans la tétrade en croix nous distinguons encore des grains chromatophiles séparés par des zones moins vivement colorées, on voit désormais la chromatique s'étendre uniformément à l'ensemble de chaque chromatide. Celles-ci se raccourcissent, se transforment en petits bâtonnets intensément colorés. Ces bâtonnets conservent une disposition relative analogue à celle qui se manifeste dans la tétrade en croix. En effet, la structure quadruple de la figure est encore bien visible à ce moment et peut persister jusqu'à la diacinese (fig. 6g, chromosome a). En général, la condensation s'accentuant entraîne la fusion des chromatides deux à deux qui conduit à la structure double du bivalent diacinétique. Chez *Caenorhabditis elegans*, cet aspect se trouve réalisé,

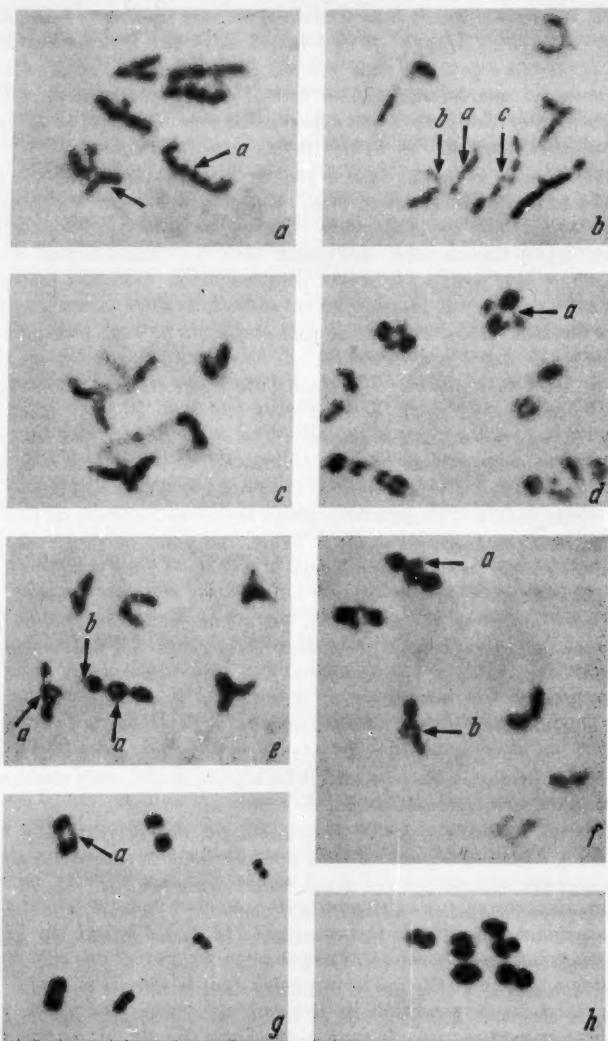


Fig. 6a-h. *Caenorhabditis elegans*: prémeiose ovogénétique: Diacinèse. a Figures en V typiques sauf Chromosome a (première forme de passage vers la tétrade en croix), Chromosome marqué par une flèche sans lettre (tétrade en croix aberrante). b Figures en V typiques sauf Chromosomes a et b (2 branches disjointes d'une figure en V), Chromosome c

dans tous les chromosomes, au moment des divisions de maturation qui marquent l'apogée du processus de condensation (fig. 6h).

b) *Autres formes de tétraïdes.* Parfois, la série des figures visibles dans une même gonade ne comporte aucune tétrade en croix bien caractérisée. Tout au plus trouve-t-on alors quelques aspects représentant les premiers indices de leur formation.

Ailleurs, certaines figures s'écartent du type morphologique des tétraïdes en croix: comportant un anneau central de chromatine flanqué de deux prolongements diamétralement opposés, nous les avons désignées sous le nom de tétraïdes en  $\Phi$  (fig. 6e et f, chromosomes a). La structure de l'anneau central est souvent homogène. Les ponctuations épaisses,



Fig. 7. Formation de la tétrade en  $\Phi$ . (Sublimé acétique — Feulgen,  $\times 5000$ .) Evolution supposée conduisant de la figure en V à la tétrade en  $\Phi$  (figures empruntées à divers noyaux de divers animaux). 1 Figure en V; 2, 3 Dédoublement médián; 4 à 6 Passage à la tétrade en  $\Phi$ .

situées de part et d'autre de l'anneau, sont parfois nettement scindées et sont unies à l'anneau par un tractus discrètement teinté. A l'opposé de ce tractus, on voit parfois à côté des ponctuations épaisses un grain unique, faiblement coloré (b, fig. 6e).

Un examen attentif de toutes les figures tétradiques montre également la présence de formes intermédiaires entre une tétrade à bras transversaux très réduits et la tétrade en  $\Phi$ . Nous avons vu en effet, parmi les intermédiaires entre la figure en V et la tétrade en croix, un stade comportant deux bras allongés, se dédoublant au centre de la figure, pour se rencontrer au niveau de ponctuations plus petites qui figurent les bras transversaux encore réduits (fig. 6b, chromosome c). Si l'on imagine un raccourcissement des bras longitudinaux, on peut aboutir à une figure de forme intermédiaire (fig. 6f, chromosome b). A partir de là, une légère modification suffirait à régulariser le losange central et à fournir une figure en  $\Phi$  (voir la fig. 7).

(structure intermédiaire entre la figure en V et la tétrade en  $\Phi$ ). c Dédoublement des figures en V. Formes de passage aux tétraïdes en croix. d-f Diacénèse plus avancée: figures en V dédoublées. Tétraïdes en croix et téraïdes en  $\Phi$ . d Chromosome a: tétrade en croix typique. e Chromosomes a: téraïdes en  $\Phi$  typiques. En b noter une fine granulation chromatique disposée à l'extrémité de la tétrade en  $\Phi$ . f Chromosome a: térade en  $\Phi$  typique. Chromosome b: structure intermédiaire entre la figure en V et la tétrade en  $\Phi$ . g Diacénèse typique — Bivalents et tétraïdes. Chromosome a: structure quadruple de la tétrade. h Passage de la diacénèse à la métaphase. Bivalents. Sublimé acétique — Feulgen.  $\times 3870$ .

### III. La spermatogenèse.

L'examen d'animaux plus jeunes, en cours de spermatogenèse, y montre des figures chromosomiques comparables à celles que nous venons de décrire dans l'ovogénèse. Nous noterons seulement quelques particularités.

Dans les noyaux pachytènes, le chromosome hétéropycnotique est plus fréquent et reste visible plus longtemps : on le trouve encore dans les derniers noyaux de la zone pachytène.

Si les figures en V peuvent être reconnues, en revanche on ne trouve pas de tétrades en croix dans les spermatocytes. L'évolution chromosomique y aboutit à la formation de bivalents typiques, d'une façon qui semble plus soudaine que dans l'ovogénèse. Toutefois, la dimension plus faible des noyaux, la régularité moindre que présente ici la sériation linéaire des stades évolutifs, expliquent les difficultés beaucoup plus grandes que présente l'étude de la spermatogenèse. On ne saurait donc accorder une importance exagérée aux différences qu'elle comporte.

### IV. Conclusions.

Les figures chromosomiques montrent, chez *Caenorhabditis elegans*, de nombreuses structures identiques à celles décrites chez d'autres espèces. Ainsi, les anses pachytènes, les tétrades en croix, les bivalents diacinetiques, offrent autant de repères qui nous replacent dans le cadre d'une évolution bien connue. D'autres aspects, plus spéciaux, se rattachent à des structures déjà décrites. C'est ainsi que, dans un travail antérieur (NIGON 1949), le stade dispersé a été désigné par l'un de nous sous le nom d'interphase postsyndétique, suivant une terminologie connue (BĚLAŘ 1928). De même, l'évolution terminale dans son ensemble comporte des structures analogues à celles qui sont habituellement désignées sous le nom de diplotène : seule l'absence de démarcations tranchées qui résulte d'une évolution continue nous a conduit à éviter l'emploi de ce terme.

La comparaison de ces figures, l'examen de leur succession, permettent d'imaginer pour les relier un processus de filiation qui, dans ses grandes lignes, correspond aux sériations établies sur d'autres matériels. La figure en V y apparaît comme le résultat d'un clivage longitudinal du chromosome pachytène dont les constituants restent associés par une de leurs extrémités. Un second clivage, joint à une condensation et à un déplacement relatif des diverses parties du chromosome, donnera naissance aux diverses formes de tétrades que nous avons décrites. L'achèvement de la condensation conduit à la formation des bivalents. Les diverses caractéristiques de cette évolution supposée ont été résumées dans la figure 8.

Cette évolution présente cependant quelques particularités qui lui sont propres. Parmi celles-ci, nous noterons surtout le mode de formation des tétrade à partir des figures en V. D'après les observations classiques, la constitution de la tétrade résulterait directement du clivage du chromosome pachytène en quatre éléments. Entre ces derniers, s'établiraient des chiasmes conduisant, d'après DARLINGTON (1937),



Fig. 8. Evolution supposée du pachytène à la diacinese terminale. (Sublimé acétique — Feulgen,  $\times 5000$ .) Figures empruntées à divers noyaux chez divers animaux. 1 Pachytène; 2 à 5 Dédoublement longitudinal; 6 à 9 Figures en V; 10 à 12 Dédoublement de la figure en V; 13 à 15 Tétrade en croix; 16, 17 Tétrade; 18, 19 Bivalents.

au maintien de certaines liaisons. Celles-ci se modifieraient ensuite grâce aux mouvements de terminalisation que subiraient les chiasmes. Or, chez *Caenorhabditis elegans*, on constate d'abord un simple dédoublement du chromosome pachytène, s'étendant sur toute la longueur de celui-ci, immédiatement terminalisé. C'est ensuite seulement que se produiraient les tétrade par un nouveau clivage associé à un déplacement qui s'effectuerait en sens inverse de l'orientation classique du mouvement de terminalisation. La figure 9 résume et oppose les deux modalités.

Notons brièvement que des observations, portant sur d'autres espèces, ont déjà montré l'existence de phénomènes dans une certaine

mesure comparables: citons seulement les études faites sur *Orgyia antiqua* (CRETSCHMAR 1928), *Tischeria angusticolella* (KNABEN 1931). Chez *Melanoplus femur-rubrum*, HEARNE et HUSKINS (1935) ont également admis l'existence de mouvements chromosomiques complexes dont certains se produisent en sens inverse du mouvement de terminalisation classique. L'existence de ces particularités, la difficulté que l'on peut éprouver à les intégrer dans la thèse chiasmatypique, appelleraient sans

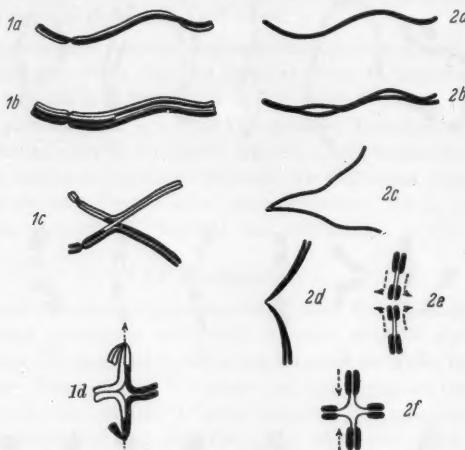


Fig. 9. Hypothèses relatives à la formation des tétrades en croix. — Série 1 (à gauche): mode chiasmatypique (d'après C. D. DARLINGTON, 1937, p. 251). — Série 2 (à droite): interprétation des processus rencontrés chez *Caenorhabditis elegans*. a Pachytène; b Diplotène; c à f Evolution des tétrades. Les flèches pointillées indiquent le sens de déplacement des chromatides.

doute d'autres commentaires et des comparaisons avec d'autres observations qui, comme les précédentes, ne peuvent être inscrites de façon simple dans le cadre de cette théorie. Une telle discussion nous a semblé pourtant provisoirement inutile du fait des problèmes que soulèvent les observations effectuées sur le noyau vivant. Nous retiendrons seulement de l'étude précédente la netteté avec laquelle les figures chromosomiques ont pu être observées chez cette espèce, la sécurité avec laquelle leur position peut être établie dans la succession des stades nucléaires grâce à la structure de la gonade et particulièrement grâce à la disposition linéaire des formes terminales de l'ovogenèse. Cette dernière caractéristique s'avère essentielle dans notre étude, pour le matériel vivant comme sur les préparations fixées: la disposition d'une cellule dans la gonade correspondant, de façon régulière, à un stade nucléaire déterminé.

### La structure du noyau vivant et l'action des fixateurs.

#### *I. Les noyaux dans la gonade vivante.*

**Techniques.** L'observation vitale a été poursuivie grâce à l'emploi du microscope à contraste de phase. Les préparations destinées à ces observations ont été réalisées de diverses façons. Le moyen le plus simple consiste à examiner l'animal entier, comprimé entre lame et lamelle, l'observation étant faite à travers l'ensemble des parois du corps et de la gonade. La compression doit être suffisante pour déterminer un certain ralentissement dans les mouvements de l'animal; elle ne saurait cependant atteindre une valeur excessive, susceptible de l'écraser. La qualité de l'observation est subordonnée à une orientation convenable du sujet car la visibilité peut être gênée par les diffractions qu'entraîne l'interposition des parois et par les irisations que détermine l'intestin dont le contenu cellulaire est très réfringent. Lorsque la disposition relative de la gonade et de l'intestin est favorable, on peut obtenir une image parfaitement nette du noyau et sa structure est ainsi aisément étudiée.

Des conditions d'examen bien meilleures sont fournies par les gonades disséquées et montées dans NaCl à 7% ou dans une solution de saccharose à 10%. Dans ce cas, la condition essentielle d'une observation valable réside dans l'intégrité de la paroi de la gonade. Cette paroi est constituée par un épithélium mince, de type pavimenteux et unistratifié, à noyaux rares et éloignés. A la limite de la gonade et de l'utérus, le réceptacle séminal est formé par quelques cellules plus hautes dont les contours, bien visibles en contraste de phase, s'engrènent réciproquement par de multiples sinuosités. La paroi de l'utérus présente une structure analogue à celle de la gonade. La dissection permet de faire saillir la plus grande partie de l'appareil génital à l'extérieur du manchon que constitue la paroi du corps. L'intestin, qui a jailli également, peut être coupé ou simplement éloigné de la gonade, de façon à ne pas gêner l'observation de celle-ci. Lorsque l'opération est bien conduite, la paroi de la gonade reste intacte; ses connexions avec l'utérus et la vulve sont conservées. La vitalité de cette paroi est d'ailleurs attestée, dans un bon nombre de cas, par la persistance des mouvements péristaltiques que l'on voit s'opérer à la limite de la gonade et du réceptacle séminal: ces contractions ont normalement pour effet d'expulser dans l'utérus les ovocytes parvenus à maturité. Un autre signe de vitalité de l'organe peut être trouvé dans l'observation d'un chondriome intact présent dans les jeunes ovocytes; dans les cellules plus évoluées, l'abondance des granulations vitellines interdit de discerner le chondriome. L'identité des aspects nucléaires tels qu'on peut les observer dans la zone diacinetique sur une gonade disséquée et de ceux que l'on voit dans un animal entier, garantit également la vitalité cellulaire. L'inconvénient majeur de ce procédé résulte du fait qu'une même préparation peut être rarement suivie durant plus de trente minutes. La perméabilité de la paroi gonadique s'altère inévitablement à la longue. Cette altération se traduit par l'apparition de méats intercellulaires, par une certaine vacuolisatation du cytoplasme, par un resserrement des granulations vitellines autour du noyau dans les ovocytes mûrs et par la transformation de leurs structures nucléaires.

La majeure partie de nos observations a été effectuée à l'aide d'un microscope à contraste de phase Wild (objectif x 85 à immersion). Nous avons utilisé aussi un équipement Zeiss. Pour l'objet étudié, ce dernier s'est généralement révélé moins favorable. Les constantes de construction y conduisent en effet à des contrastes plus élevés. Il en résulte que la structure hétérogène du cytoplasme devient très gênante pour l'observation des détails nucléaires. Toutefois, dans certaines zones de la gonade, au cytoplasme plus homogène, l'utilisation de l'équipement Zeiss apporte au contraire une définition meilleure.

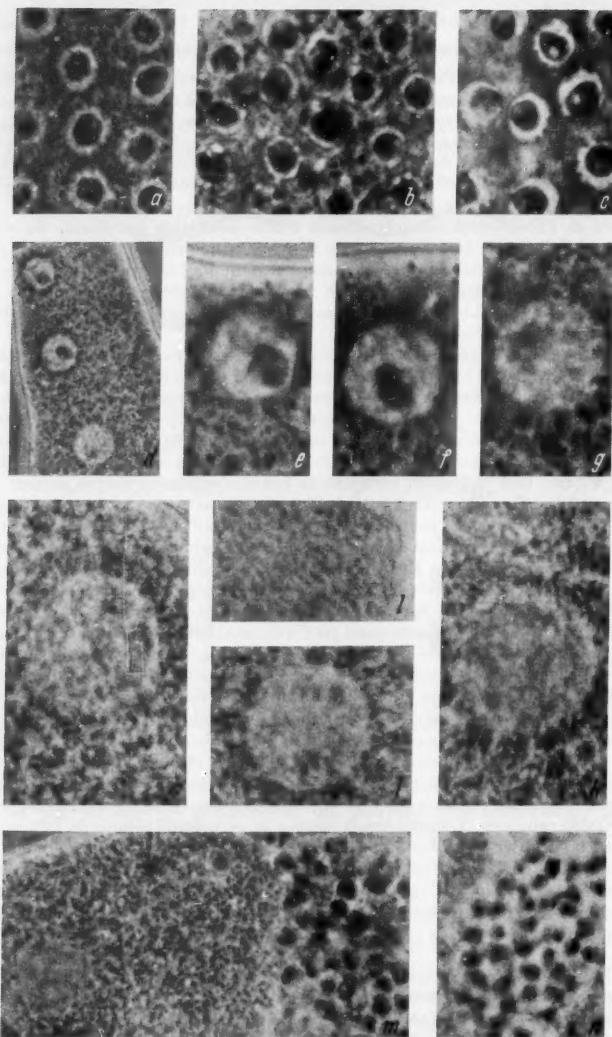


Fig. 10 (11 et 13). *Caenorhabditis elegans*. Structure du noyau vivant et action des fixateurs. A l'exception des figures 10a—c, m, n, toutes les figures ont été obtenues à partir de noyaux ovocytaires, en fin d'accroissement, observés à l'aide d'un microscope à contraste de phase WILD-objectif à immersion  $\times 85$  (Voir fig. 6 l'aspect de tels noyaux après fixations et colorations classiques).

Dans le cul de sac ovarien, les noyaux apparaissent fortement serrés, occupés dans leur plus grande partie par un volumineux nucléole dont la tonalité sombre contraste avec l'anneau clair du suc nucléaire qui l'entoure. On remarque, en outre, quelques noyaux plus gros dans lesquels le nucléole occupe une place importante.

Dans la zone du pachytène, on distingue parfaitement les limites cellulaires et les noyaux formant une couche unistratifiée au contact de la paroi de la gonade. Le manchon cellulaire, ainsi constitué, entoure un axe de cytoplasme indivis, le rachis, dans lequel on trouve des granulations vitellines assez abondantes. Les dimensions des noyaux ont faiblement augmenté. Un accroissement du nucléole s'opérant parallèlement, le noyau apparaît donc toujours sous l'aspect d'un anneau clair entourant une masse nucléolaire sphérique, généralement homogène, ponctuée par quelques granulations plus claires (fig. 10a).

Dans la zone d'accroissement rapide, le cytoplasme est parsemé de granulations vitellines et ne présente jamais l'aspect vacuolaire visible sur de nombreuses préparations fixées. La dimension du nucléole reste d'abord pratiquement fixe, tandis que le volume cellulaire et le diamètre nucléaire augmentent très vite (fig. 10d—f). Bientôt, les contours du nucléole s'estompent (fig. 10g). Celui-ci ne subsiste plus dans le noyau que sous la forme d'une tache sombre aux limites imprécises. Cette dernière va disparaître à son tour et les noyaux, situés dans les cellules qui précèdent immédiatement le réceptacle séminal, en apparaissent dépourvus (fig. 10h—k). Ainsi l'effacement du nucléole s'effectue par dissolution et non par fragmentation, selon un processus décrit d'après l'étude de préparations fixées (DELAVault 1952). En une seule occasion nous avons pu constater la présence de deux nucléoles, situés côte à côte dans un même noyau, chacun d'entre eux étant d'une taille inférieure à celle du nucléole unique rencontré dans les cellules environnantes de la même gonade. Dans aucun noyau, nous n'avons pu observer la présence de chromosomes nets, bien délimités. Dans la zone de multiplication, dans la zone du pachytène, on décèle parfois la présence de granulations épaisses, joignant le nucléole à la membrane nucléaire (fig. 10a). D'un gris très faiblement contrasté, leurs limites apparaissent peu nettement. S'agirait-il de la trace laissée, en coupe optique, par les anses pachytènes, elles-mêmes invisibles ? La présence

Fig. 10a—c. Pachytène ( $\times 1215$ ). a Noyaux vivants. b Noyaux fixés par l'acide osmique salé. c Noyaux fixés par l'acide acétique à 1 %. d—g Disparition progressive du nucléole. Stades initiaux de la fin de l'accroissement. e, f et g ( $\times 1890$ ) représentent chacun des trois noyaux visibles dans d ( $\times 630$ ). h—k Fin d'accroissement. Noter en h et i quelques hétérogénéités définies dans la trame nucléaire ( $\times 1890$ ). l Zone cytoplasmique d'un ovocyte mûr, photographié en dehors de la mise au point. Comparer avec la structure intranucléaire des figures précédentes ( $\times 1890$ ). m, n Spermatozoïdes ( $\times 1215$ ). m Sur le vivant. Noter la taille des spermatozoïdes dans la vésicule séminale après le dernier ovocyte mûr. n Spermatozoïdes fixés à l'acide osmique salé.

d'un nucléole sombre suffirait évidemment à expliquer l'absence des formes caractéristiques du chromosome pachytène qui devrait se projeter sur lui. Cette interprétation n'en reste pas moins hasardeuse.

Beaucoup plus surprenante est l'absence de bivalents visibles au niveau des ovocytes dans lesquels l'étude de préparations fixées révèle, immuablement, une diacinese typique. Le noyau vivant s'y présente, en effet, sous la forme d'une vésicule claire, bien transparente, aux limites nettes. Celle-ci n'apparaît pas cependant comme un espace optiquement vide. On y discerne une hétérogénéité d'une définition très difficile, paraissant constituée de granulations floues très pâles ou de filaments contournés. L'ensemble de l'espace nucléaire prend, de ce fait, l'aspect d'un treillis. Sur ce fond s'étendent souvent quelques taches plus soutenues, mal délimitées. L'ensemble de ces figures apparaît doué d'une certaine mobilité: si l'on fixe attentivement un point déterminé du noyau, on voit que la coloration sombre qui l'occupait à un instant donné s'estompe pour faire place bientôt à une maille claire. Le mouvement de la figure ne peut être interprété comme résultant d'une simple translation de l'ensemble: c'est la figure elle-même qui se modifie. Les aspects observés rappellent les structures qui furent décrites dans les noyaux vivants des leucocytes de Grenouille par SHIWAGO (1926). Dans les deux cas, ces figures sont caractérisées par leur mobilité.

L'interprétation de ces structures nucléaires curieuses nous a fort longtemps retenus, jusqu'au moment où nous avons constaté que des figures très analogues pouvaient être observées en dehors de l'aire nucléaire. En effet, si l'on fixe, au microscope à contraste de phase, une zone cytoplasmique, en se plaçant à une mise au point légèrement extérieure à la limite supérieure du cytoplasme observé, on obtient une «image floue» de ce cytoplasme (fig. 10 l). Et l'on constate que cette image présente le même aspect et les mêmes propriétés que la structure nucléaire précédemment décrite. Dans ce dernier cas, nous nous trouvons évidemment en présence d'images de diffraction rendues particulièrement visibles par l'éclairage en contraste de phase. Ces images pourraient être dues à l'action des granulations vitellines fonctionnant à la manière d'un réseau, la mobilité de ces «franges de diffraction» se trouvant expliquée par les déplacements constants des particules cytoplasmiques. Cette explication permet également de comprendre qu'on ne puisse établir une superposition rigoureuse entre la «figure floue» et la structure sous-jacente. En effet, sous une maille claire du réseau que forme la figure de diffraction, on ne retrouve pas obligatoirement une petite zone hyaloplasmique; sous un point sombre ne se situe pas nécessairement une granulation opaque: la formation de l'image de diffraction répond en réalité à une genèse plus complexe.

L'existence de cette figure étant constatée, il faut reconnaître qu'elle se superpose nécessairement à l'image de toute formation objectivement contenue dans le noyau. Afin de pouvoir définir la structure propre de ce dernier, il faut donc faire d'abord la part de la diffraction. La comparaison des photographies montre combien peut être aléatoire une distinction précise entre les deux effets qui concourent à créer l'aspect nucléaire observé. La présence, dans l'aire nucléaire des ovocytes terminaux, de quelques taches plus sombres pourrait éventuellement être rapportée à l'existence d'une structure proprement intranucléaire (fig. 10i). Quelques réserves s'imposent toutefois du fait que la présence de ces taches ne paraît pas absolument constante. En outre, leur aspect diffus, leur taille importante et leur forme, ne rappellent en rien les bivalents classiques. Au niveau des noyaux pachytènes, la figure de diffraction intervient également : elle s'y trouve cependant moins apparente car le cytoplasme est dans cette région relativement homogène. Il n'en reste pas moins très difficile de savoir dans quelle mesure les hétérogénéités, visibles à ce niveau, dans le suc nucléaire, doivent être rapportées à une structure intranucléaire ou à l'effet de la diffraction.

Si l'étude des noyaux vivants ne montre l'existence d'aucune des structures classiques sous leurs formes précédemment décrites, nous avons pu cependant en observer l'apparition dans les noyaux des cellules moribondes. Lorsque la préparation est observée trop longuement ou bien si la paroi de la gonade est endommagée et que le contenu cellulaire s'écoule dans le milieu d'observation, on constate diverses modifications dans la structure nucléaire. Parmi celles-ci, on note souvent l'apparition progressive de formations, d'abord très pâles, dont le contraste s'accroît graduellement jusqu'à leur conférer une coloration presque noire. Ces formations, animées d'un mouvement brownien rapide, montrent distinctement l'aspect des tétrades et des bivalents classiques. On y distingue les fissurations longitudinale et transversale avec une netteté parfaite. Parfois, la réticulation attribuée à la diffraction reste visible dans les noyaux qui ont subi ces changements : l'agitation brownienne des bivalents contraste alors avec les transformations lentes du réseau. Mais, souvent, la réticulation s'atténue au centre et persiste plus longtemps sur les bords du noyau : cette atténuation s'explique sans doute par la diminution de l'épaisseur du cytoplasme qui entoure ces noyaux altérés, diminution qui peut aller jusqu'à la disparition quasi complète lorsque, après éclatement de la cellule, le noyau baigne directement dans le liquide de suspension. La structure nucléaire qui a pris naissance au cours de ces transformations reste instable. Bientôt apparaissent, dans le nucléoplasme, des formations granulaires, animées d'un mouvement brownien rapide, qui s'agglomèrent entre elles pour donner naissance à des globules plus gros. En même temps, les chromosomes

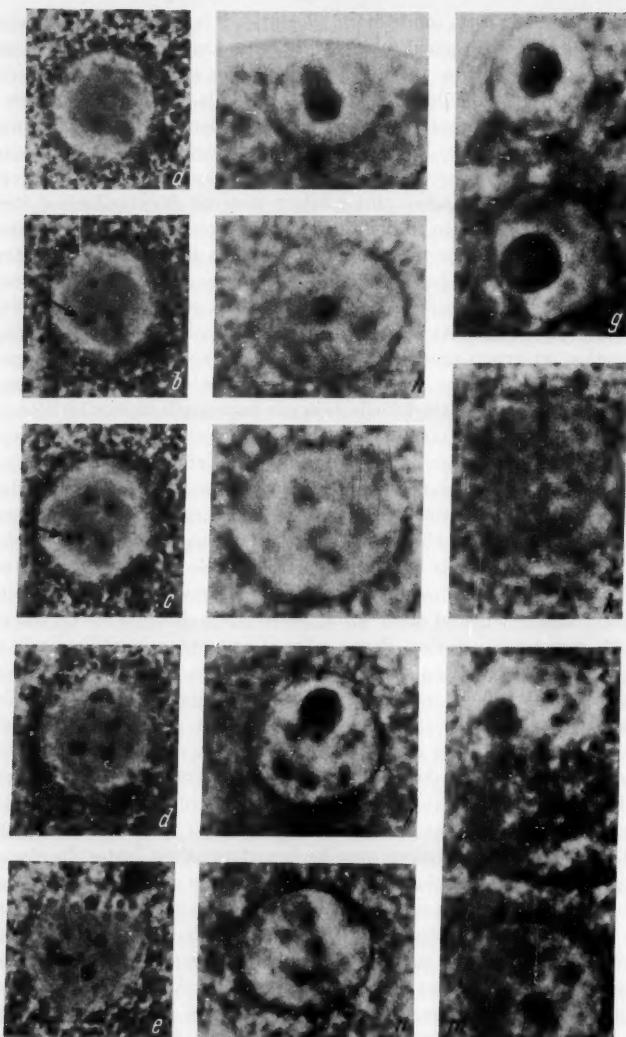


Fig. 11a—n. *Caenorhabditis elegans*: noyaux ovocytaires. a—e Série de figures fournie par une même noyau en fin d'ovogénèse, dans son évolution après éclatement de la cellule qui le contenait. Dans les figures b et c, les flèches indiquent des bivalents distincts ( $\times 1260$ ). f—k Noyaux en fin d'ovogénèse après fixation à l'acide osmique salé et

disparaissent selon des modalités qui restent incertaines : sans doute sont-ils englobés dans le processus d'agglomération qui caractérise les granules. Les figures 11 a—e montrent l'évolution complète d'un tel noyau, étudié depuis les premiers signes de son altération. Il est regrettable que le mouvement incessant des chromosomes nous ait interdit, jusqu'à présent, d'en obtenir des photographies nettes : les figures annexées sont, de ce fait, infiniment moins précises que les données fournies par l'observation directe.

De cette première série de constatations, il faut conclure que, dans les conditions de nos études, l'invisibilité des chromosomes diacinetiques sous leurs formes habituelles ne résulte pas seulement des conditions difficiles dans lesquelles doit se faire l'observation. En effet, à la suite de changements manifestement mortels, mais sans que les conditions optiques aient été obligatoirement modifiées de façon radicale, ces chromosomes apparaissent. On est donc obligé d'admettre que cette transformation traduit une modification dans la structure objective du noyau. Cette conclusion s'impose davantage encore si l'on considère à quel point est visible, dans une gonade vivante, la masse chromatinnienne du spermatozoïde : bien que les conditions d'observation soient plutôt moins bonnes dans la zone du réceptacle séminal que dans celle des noyaux diacinetiques, cette masse chromatinnienne apparaît nettement, opaque, très réfringente (fig. 10m). Il eut été fort utile de pouvoir poursuivre l'analyse sur les œufs après fécondation ; d'être en mesure d'étudier, par les mêmes moyens, les métaphases des divisions de maturation ou de segmentation. Malheureusement à ces stades, l'espace nucléaire limpide a disparu. Les chromosomes doivent se trouver au contact des granulations vitellines qui encombrent le cytoplasme. Cette circonstance suffit à expliquer l'impossibilité dans laquelle nous nous sommes trouvés de reconnaître, en contraste de phase, des structures chromosomiques à ces stades. Il nous faut donc arrêter à ce point l'étude du noyau vivant.

## *II. La structure des noyaux dans la gonade fixée.*

**Techniques :** On peut suivre l'action des fixateurs soit en les introduisant entre lame et lamelle sans interrompre l'observation, soit en transportant directement la gonade, après sa dissection, dans une goutte de fixateur et en examinant ensuite seulement la préparation montée. L'effet déterminé par un même fixateur, employé dans ces deux conditions, est généralement assez différent : inséré entre lame et lamelle, le fixateur exerce son action lentement, limité par la dilution qu'il subit

surfixation au formol ( $\times 1890$ ). f, g Nucléole volumineux et très contrasté (f montage au sirop de lévulose; g montage au baume du Canada). h Nucléole en voie de disparition (Montage au baume du Canada). i, k Croissance achevée. Diffractions cytoplasmiques et hétérogénéités (i sirop de lévulose; k baume du Canada). l—n Influences de traitements postérieurs à la fixation : Montage au baume du Canada ( $\times 1890$ ). l Fixation à l'acide osmique salé. Surfixation au formol = 6 heures. m, n Même fixation. Surfixation = 24 heures.

et par la vitesse de sa diffusion. Lorsque la préparation est transportée directement dans le fixateur, celui-ci ne subit qu'une dilution faible et agit brutalement.

L'introduction du fixateur sous la lamelle comporte l'inconvénient d'entraîner des variations de compression qui gênent l'observation. Un résultat nettement meilleur a pu être obtenu en réalisant le montage suivant (fig. 12) dans lequel *p* représente l'objet et *c* un fragment de lamelle de 2 à 3 mm de côté. Le liquide de montage initial est alors réduit à la goutte qui entoure le fragment *c* et l'espace à parcourir par diffusion est également limité. Si le volume de la goutte de fixateur ajouté au bord de la lamelle *a* a été bien mesuré, celui-ci remplit tout l'espace compris entre la lame *b* et la lamelle *a* sans entraîner de variation d'épaisseur: l'observation de la préparation n'est alors, à aucun moment, suspendue.

La plupart des fixations déterminent rapidement des changements considérables dans les structures nucléaires et dans les conditions optiques auxquelles sont soumises les observations en contraste de phase. Très souvent le cytoplasme s'illuminne littéralement, de même que toutes les surfaces de séparation, membrane nucléaire, membrane cellulaire, etc. La préparation baigne alors dans un halo lumineux et offre des conditions d'observation déplorables. Certains fixateurs, l'acide acétique à 1% agissant sous la lamelle et d'une façon générale les fixateurs dilués, ne déterminent cet effet qu'avec un certain retard. Durant plusieurs minutes, tandis que s'opère la fixation, la préparation reste encore étudiabilie, avant de voir tous ses détails disparaître dans un brouillard lumineux. Les meilleurs résultats nous ont été fournis par l'action successive de l'acide osmique et du formol, fixation qui conserve, au contraire, les rapports de contraste qui caractérisent la cellule vivante.

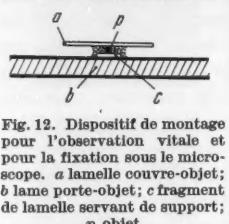


Fig. 12. Dispositif de montage pour l'observation vitale et pour la fixation sous le microscope. *a* lamelle couvre-objet; *b* lame porte-objet; *c* fragment de lamelle servant de support; *p* objet.

successive de l'acide osmique et du formol, fixation qui conserve, au contraire, les rapports de contraste qui caractérisent la cellule vivante.

**Fixation osmique:** l'animal disséqué est immédiatement placé dans une goutte d'une solution d'acide osmique à 0,5% additionnée de chlorure de sodium (0,25%). L'action de ce fixateur est poursuivie pendant une minute environ. Puis, le fixateur est remplacé par une solution de formol neutralisé, à 2,5%, additionnée d'une trace de sublimé (0,04%). La préparation peut être directement montée et observée dans le second mélange fixateur. La première fixation osmique joue ici un rôle essentiel: lorsque la préparation est soumise directement à l'action du formol, le cytoplasme se vacuolise, les structures se transforment rapidement, effets qui ne sont pas observés après une fixation osmique préalable. Afin d'éviter l'assombrissement dû au dépôt d'osmium métallique, il faut utiliser une faible concentration d'acide osmique; celle-ci doit être compensée par l'addition de chlorure de sodium, faute de quoi la paroi de la gonade éclate sous l'effet de la différence entre les pressions osmotiques qui règnent sur ses deux faces. L'utilisation d'une concentration de formol relativement faible est également essentielle pour la bonne conservation des caractéristiques optiques. L'addition d'une infime quantité de sublimé devient, de ce fait, capitale: elle améliore la fixation et permet d'éviter, encore une fois, l'éclatement de la gonade, bien que son action ne soit certainement pas imputable à l'effet qu'elle exerce sur la pression osmotique.

**Fixation acétique.** Entre lame et lamelle, l'introduction d'acide acétique à 1% nous a donné des résultats utilisables. Pour obtenir des effets comparables dans le cas de fixation en goutte, il nous a fallu utiliser une première fixation par l'acide acétique à 0,5% additionné de sublimé à 0,04%, achevée ensuite par l'action du formol neutralisé à 10%.

Les préparations ainsi fixées peuvent être observées beaucoup plus longuement que les préparations vivantes. On peut également les monter dans le sirop de lévulose, milieu qui conserve, pendant un certain temps, les réfringences relatives et les densités caractéristiques du vivant. Elles ne peuvent cependant être conservées en cet état au delà de quelques jours. Le plus souvent les contrastes diminuent, le nucléole, par exemple, devenant à peine visible dans le noyau. Dans d'autres préparations, le contraste ira au contraire en s'accroissant; le nucléole s'assombrira tandis que le suc nucléaire devient considérablement plus clair. Des changements peuvent aussi se produire dans le cytoplasme qui montre une tendance à s'éclaircir en même temps que les granulations vitellines, uniformément réparties sur le vivant, deviennent plus denses dans une zone périnucléaire.

Lorsque les gonades sont fixées par l'acide osmique suivant la technique précédente et immédiatement étudiées, leur structure, les contrastes relatifs entre leurs diverses parties, restent extrêmement proches des aspects rencontrés dans l'organisme vivant (fig. 10b—fig. 11f). Les spermatozoïdes sont parfaitement conservés et leur masse chromatinienne est bien visible (fig. 10n). Quelques différences secondaires apparaissent toutefois. Un léger noirissement, dû au dépôt d'osmium métallique, est noté au niveau des ovocytes en fin de croissance: l'opacité qui en résulte détermine souvent une visibilité moins bonne des contours nucléaires, parfaitement nets dans la cellule vivante et qui apparaissent ici légèrement estompés. Une certaine rétraction des cellules peut provoquer, dans la zone pachytène, l'apparition de quelques méats intercellulaires. Dans cette zone également, il n'est pas toujours possible d'éviter complètement l'éclatement de la paroi de la gonade. En outre, les nucléoles montrent souvent une vacuolisation accrue. Dans les oocytes diacinétiques, le suc nucléaire prend généralement l'aspect hétérogène déjà décrit (fig. 11h,k). Comme dans la cellule vivante, cette hétérogénéité paraît être en grande partie la conséquence de diffractions. Sur ce fond, se détachent souvent quelques masses, plus sombres et mal individualisées, analogues à celles qui étaient déjà visibles dans le noyau vivant (fig. 11i). Toutefois le contraste de ces derniers éléments tend à s'affirmer. Dans certains noyaux, le fond nucléaire devient plus homogène tandis que les masses sombres tranchent davantage, mais il n'est pas encore possible d'y déceler, avec sécurité, les formes chromosomiques habituelles (fig. 11g). Enfin, quelques préparations montrent un suc nucléaire sur lequel se détachent des formations sombres et bien définies dans lesquelles on reconnaît l'aspect diacinétique.

Ainsi, le procédé de fixation précédent conserve, le plus souvent, la structure du vivant. Mais parfois apparaissent des aspects nouveaux qui, à l'extrême, semblent aboutir à constituer des chromosomes caractéristiques. Cette variation offre un certain parallélisme avec celle que nous avons pu observer dans les noyaux moribonds. La clarification plus ou moins marquée du suc nucléaire doit être attribuée, sans doute,

à des altérations de la structure cytoplasmique et de l'indice de réfraction du suc nucléaire qui modifient les conditions auxquelles obéit la formation des figures de diffraction. L'existence d'une série continue et parallèle conduisant, depuis des masses floues et légèrement plus sombres que le fond nucléaire, à des formes plus tranchées et enfin à des tétrades reconnaissables, suggère évidemment l'existence d'une filiation dans la constitution de ces figures: les tétrades dériveraient-elles des figures floues observées le plus souvent? Il faut reconnaître qu'un tel rapprochement ne s'appuie encore que sur un ensemble de comparaisons: l'étude sur le noyau moribond n'ayant pas permis, jusqu'à présent, d'observer directement cette filiation.

La fixation par l'acide acétique à 1%, pratiquée sous le microscope, a permis l'observation d'un phénomène curieux. Dès que la préparation est atteinte par le fixateur, elle s'éclaircit considérablement. Après quelques instants, on voit apparaître, dans les noyaux de la zone dia-cinétique, une multitude de fines granulations agitées de mouvements browniens. En l'espace de quelques secondes, ces granulations s'agglomèrent pour former une dizaine environ d'unités plus importantes, toujours mobiles. Quelquefois ces dernières ont l'aspect d'un bivalent. Le plus souvent, les amas qui prennent naissance à ce moment sont de forme irrégulière, parfois sphérique, ressemblant à de petits nucléoles. Les figures 13f-h montrent les états successifs d'un même noyau au cours de ce traitement: la majorité des structures y sont, malheureusement, rendues floues par suite de leur mouvement rapide. Les figures 13d et e représentent également un autre noyau à des moments successifs de sa transformation sous l'action de l'acide acétique. Si, après cette fixation, on pratique la réaction de Feulgen et qu'on monte la préparation dans le sirop de lévulose, on constate, en éclairage ordinaire, la présence de bivalents bien reconnaissables. Et cela bien qu'en contraste de phase les mêmes bivalents ne soient pas toujours distincts. Une étude de la même préparation, alternativement en éclairage ordinaire et en contraste de phase (fig. 11i et k—11l et m) montre que les amas que nous avons vu se constituer sont en réalité de nature complexe, comportant l'association d'un bivalent Feulgen-positif et d'une structure non colorable par le même moyen. En éclairage ordinaire, on observe nettement le bivalent, la formation associée n'étant visible que par sa réfringence particulière qui disparaît généralement lorsque la préparation est montée au baume. Au contraste de phase, les deux parties se distinguent difficilement: leur fusion apparente conduit à un obscurcissement de la structure classique du bivalent (fig. 13n).

La description précédente a trait aux ovocytes achevés dont les noyaux sont dépourvus de nucléole. Dans les ovocytes moins évolués, dans les noyaux desquels on distingue encore une trace du nucléole sous la forme d'une masse assez importante, plus sombre, mais aux contours

imprécis (alors qu'ils sont très nets dans le nucléole normal), le fixateur acétique détermine la transformation de ce vestige en un nucléole net, très caractéristique. En même temps se constituent, comme dans les noyaux plus évolués, des formations granulaires qui tendent ensuite à s'accorder au nucléole proprement dit. Dans la zone du pachytène, l'action du fixateur provoque l'apparition d'anses pachytènes très réfringentes. Si leur analyse est un peu plus difficile que sur les préparations colorées, à cause du contraste du nucléole, elles sont cependant bien reconnaissables (fig. 10c).

La fixation acétique peut donc, comme l'évolution *post-mortem*, déterminer dans le noyau l'apparition de figures qui, jusqu'à ce moment, n'y étaient pas visibles. La possibilité d'assister à la formation de figures nouvelles, sous le microscope, exclut toutes les réserves qui pourraient être fondées sur les difficultés de l'observation. Les structures qui apparaissent ainsi appartiennent certainement à deux types différents : les unes sont comparables à des nucléoles, dérivant de restes nucléolaires encore visibles ou surgissant directement à partir du suc nucléaire. Rappelons que des formations nucléolaires multiples ont été décrites par DELAVAL (1952) d'après des préparations fixées au Zenker et colorées au vert de méthyle-pyronine : ces structures pyroninophiles sont vraisemblablement identiques aux granulations que nous avons vu se constituer. Elles ne résultent pas du fractionnement d'un nucléole primitif, mais se constituent par la coalescence d'une multitude de grains plus petits qui se forment dans le suc nucléaire sous l'action du fixateur. L'acide osmique ne détermine pas cette transformation et conserve au noyau un aspect plus voisin du vivant.

L'autre catégorie de structures apparaissant au cours de la fixation acétique peut être identifiée aux chromosomes. Ceux-ci dériveraient-ils alors de la coalescence de grains qui donne naissance, simultanément, aux formations de type nucléolaire ? Rien ne permet de l'affirmer. L'ensemble du processus s'opère en effet en quelques secondes. Durant ce temps, l'œil est accapré par la diversité et l'activité des mouvements qui entraînent les nombreux granules subitement formés et en voie d'accolement progressif : il est, de ce fait, impossible de s'assurer que d'autres structures ne se forment pas simultanément de façon plus discrète et par un autre procédé. Le fait que les formations chromosomiques soient parfois visibles après fixation osmiée, tandis que ce procédé semble incapable de faire naître le système granulaire précédent, vient étayer l'hypothèse d'une origine différente des deux formations.

### *III. Effets de traitements postérieurs à la fixation.*

Après fixations successives par l'acide osmique et le formol, on constate que divers traitements sont encore susceptibles de rendre visibles, en contraste de phase, des structures qui ne l'étaient pas

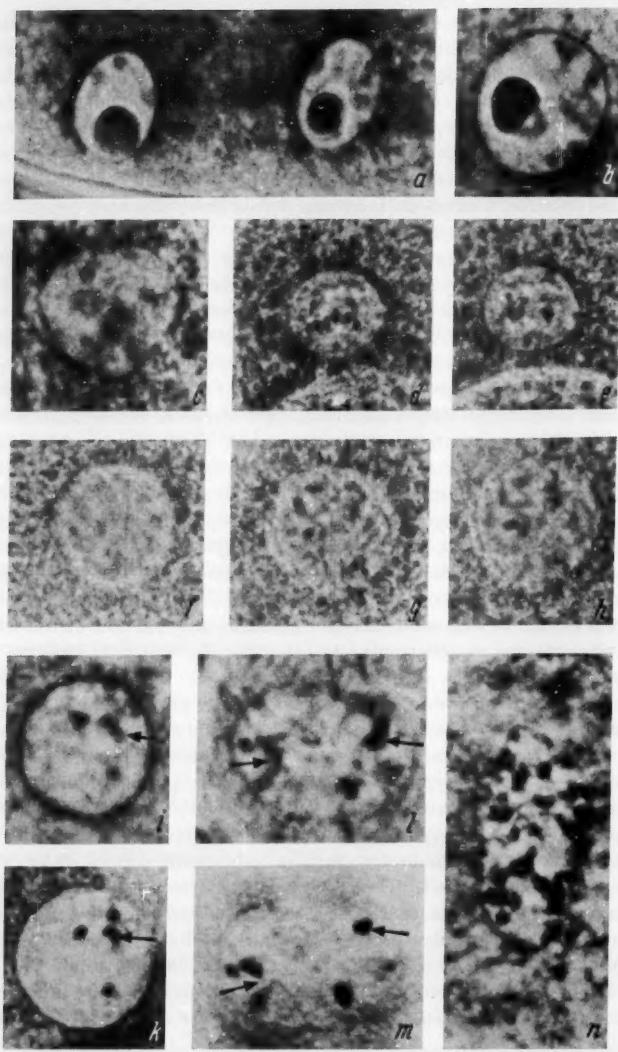


Fig. 13a-n. *Caenorhabditis elegans*: noyaux ovocytaires. a, b Influence de traitements postérieurs à la fixation: hydrolyse acide 15' dans HCl à 60°, (montage au sirop de lévulose —  $\times 1890$ ). c Influence de l'eau oxygénée après la fixation: 15' dans  $H_2O_2$ , à 5 vol. (montage au sirop de lévulose —  $\times 1890$ ). d-h Action de l'acide acétique à 1% sur le

jusqu'alors. Parmi ces traitements, nous examinerons principalement l'action de la déshydratation suivie de montage au baume du Canada, ainsi que l'influence de l'hydrolyse chlorhydrique que comporte la mise en œuvre de la réaction de Feulgen.

Lorsque la fixation formolée a été poursuivie durant 24 heures, le montage au baume du Canada ne conduit souvent qu'à une modification relativement faible des structures: d'une façon générale, la tonalité de la préparation est éclaircie et les contrastes sont atténués. L'aspect réticulé de la figure nucléaire, dû à la diffraction, devient beaucoup moins net. En revanche, les taches, dont la présence a été signalée dans le noyau vivant, sont souvent mieux visibles et la proportion des noyaux dans lesquels ces figures sont bien délimitées est plus élevée (fig. 11 m et n). Cette tendance à la limitation de structures initialement mal définies, s'accuse encore si le montage au baume est effectué après une fixation brève dont la durée n'a pas dépassé une heure (fig. 11 l). Il semble donc que certaines transformations, dont nous avons déjà constaté qu'elles peuvent se produire au cours de la fixation, puissent également se trouver déterminées par des influences s'exerçant sur le noyau fixé. Une fixation prolongée paraît, toutefois, avoir pour effet de réduire les chances de transformation.

Le même phénomène s'observe, avec une netteté bien plus grande encore, après dix minutes d'hydrolyse dans l'acide chlorhydrique normal, à la température de 60° C. Après cette hydrolyse, il est nécessaire de traiter les préparations par l'eau oxygénée (5 vol. durant 5 minutes) afin de réoxyder l'osmium réduit qui s'y est déposé: en effet, sous l'action de l'acide chlorhydrique, ce métal s'est transformé en un composé qui revêt la préparation d'une teinte uniforme, jaunâtre et opaque. L'action de l'eau oxygénée doit être utilisée avec ménagement car ce réactif endommage facilement la préparation. Utilisé sur des préparations fixées à l' $\text{OsO}_4$ , il suffit parfois à déterminer l'apparition de structures nucléaires grossières (fig. 13 c).

Les préparations ainsi traitées montrent, pour la plupart, des formations très contrastées qui semblent bien correspondre aux chromosomes (fig. 13 a et b). Un doute éventuel sur la nature de ces structures serait d'ailleurs rapidement levé par l'action du réactif de Schiff. On constate,

noyau en fin de préméiose. d et e représentent deux étapes successives dans la transformation d'un noyau sous l'action de l'acide acétique. De même la série f, g et h. L'allure floue de certaines hétérogénéités est due au fait qu'elles sont animées d'un mouvement constant ( $\times 1350$ ). i—m Essais de définition histochimique des formations visibles en contraste de phase après action de l'acide acétique. Les préparations traitées par l'acide acétique ont été colorées suivant la méthode de FEULGEN, montées au Baume et observées respectivement en contraste de phase (i et l) et en éclairage ordinaire (k et m). Les flèches attirent l'attention sur les points au niveau desquels les hétérogénéités visibles en contraste de phase débordent nettement sur celles dont la coloration permet de reconnaître la nature chromatinienne ( $\times 1890$ ). n Même préparation que pour i et l. Contraste de phase. Montage au lévulose ( $\times 1890$ ).

en effet, que ces figures sont Feulgen-positives et représentent bien les bivalents classiques. De même, les anses pachytènes sont très reconnaissables après coloration. Notons toutefois que la fuchsine ne colore pas seulement les chromosomes, mais imprègne également le cytoplasme. Cette réaction cytoplasmique se manifestant sans l'intervention d'une hydrolyse préalable ne correspond donc pas à la réaction nucléale classique. Elle confère aux préparations ainsi faites des caractéristiques qui en rendent l'étude difficile. Les figures chromosomiques y apparaissent moins nettes et comme voilées : la coloration généralisée de la préparation suffit à expliquer cet effet sans qu'il soit nécessaire de supposer que les figures elles-mêmes soient différentes de celles que nous avons décrites après l'action de fixateurs plus classiques. Notons cependant que les mêmes figures observées sans coloration, au contraste de phase, ne souffrant donc pas du même inconvénient, montrent également des contours moins nets que ceux fournis par une fixation au sublimé acétique.

En définitive, il apparaît que la structure nucléaire peut subir, chez *Caenorhabditis elegans*, des transformations variées qui surviennent soit dans le noyau moribond, soit au cours de la fixation acétique, soit après la fixation, au cours des traitements exigés par le montage et la coloration des préparations. Parmi ces modifications, nous notons comme un fait particulièrement surprenant l'apparition de structures diacinetiques précédemment invisibles avec les moyens d'observation utilisés. C'est à ce niveau subterminal de l'évolution nucléaire de l'ovocyte que les transformations ont pu être suivies avec le plus de netteté du fait des conditions d'observation relativement favorables. Il est clair que ces observations appellent un contrôle par d'autres techniques : méthodes de coloration diverses, étude en lumière ultra-violette, etc. Les tentatives que nous avons pu effectuer dans ces directions sont encore trop fragmentaires pour qu'il nous soit possible d'en faire état. Cependant sous leur forme présente, les observations effectuées appellent déjà des discussions utiles.

#### Discussion.

Avant de tirer une conclusion générale à partir des observations faites chez *Caenorhabditis elegans*, il nous faut examiner quelques uns des résultats obtenus, sur des espèces différentes, dans l'étude de problèmes analogues. Les incertitudes, au sujet du degré d'approximation avec lequel les méthodes classiques de la cytologie permettent d'analyser les structures vivantes, ont déjà fait l'objet d'investigations nombreuses. Nous nous bornerons à examiner ici les recherches qui ont eu trait à la méiose.

Les résultats les plus déterminants sont issus d'études au cours desquelles les auteurs ont conjugué l'observation de préparations fixées

et colorées de diverses façons avec l'examen sur le vivant. A l'exception des recherches portant sur la reproduction des Protistes, l'observation vitale de la gamétopénèse a dû faire appel à des techniques apparentées à la culture des tissus. Dès l'abord, il faut noter que les gonocytes se prêtent mal à ce genre de travaux. Caractérisés par la lenteur de leur différenciation, par leur pouvoir de multiplication restreint ou épuisé, ils ne peuvent fournir de véritables cultures. La plupart des expériences ont abouti seulement à les maintenir en une survie relativement brève : si, au cours de celle-ci, s'opère parfois une partie du processus méiotique, on ne peut affirmer que cette partie elle-même se déroule de façon entièrement normale. La survie est en général limitée à quelques heures, la durée de 24 heures étant rarement atteinte. Les résultats de GOLDSCHMIDT (1915—1917), obtenant une survie de trois semaines pour les spermatocytes du Lépidoptère *Samia cecropia*, restent exceptionnels. CHAMBERS (1925) remarque à ce propos que de telles réussites se présentent seulement «orsqu'on peut mettre en culture des follicules entiers, comportant un grand nombre de cellules; nous avons vu que, chez *Caenorhabditis elegans*, la structure nucléaire s'altère si la paroi de la gonade a été lésée. Or, la plupart des observations faites par les auteurs comportaient, au contraire, la dilacération des glandes génitales dont les cellules étaient plongées directement dans un liquide physiologique naturel, comme l'hémolymphe, ou dans un mélange de composition définie. De ce fait, les observations de la méiose effectuées «sur le vivant» doivent être soumises à une critique attentive.

Dans un certain nombre de cas, malgré les conditions artificielles, le déroulement de processus apparemment normaux semble apporter un argument de poids en faveur de la validité des observations. Toutefois, cet argument ne doit pas être surestimé : la prudence à cet égard est commandée par les résultats d'observations classiques portant, en particulier, sur les divisions de maturation. Celles-ci ont pu être suivies sur les spermatocytes d'Orthoptères appartenant à diverses espèces par LEWIS et ROBERTSON (1916), CHAMBERS et ses collaborateurs (1912—1925), BÉLAŘ (1929), MICHEL (1944), les deux derniers auteurs ayant accompagné leurs études de photos et de films remarquables. Tous ont pu voir les chromosomes métaphasiques et leur ascension polaire. Cependant, BÉLAŘ note que la visibilité des chromosomes dépend de la concentration du milieu de culture : une certaine distillation de celui-ci étant inévitable au cours des opérations, on peut observer, suivant les cas, des figures dans lesquelles les chromosomes sont distincts ou non. La visibilité des chromosomes est alors généralement considérée comme le test d'une observation valable, conforme au vivant. Et pourtant, BÉLAŘ (voir ses fig. 134 à 137) constate que la division peut s'achever dans un milieu hypotonique qui rend les chromosomes invisibles. Une observation

analogue peut être faite sur les cellules-mères des grains de pollen, chez *Tradescantia*, étudiées, entre autres, par SAKAMURA (1927) et par MAETENS (1929—1934). Les chromosomes y sont visibles si les cellules sont montées dans NaCl à 0,7 %. Ils disparaissent dans NaCl ou KCl M/100, tandis que CaCl<sup>2</sup> M/100 les fait réapparaître. Dans une solution de saccharose isotonique, ils disparaissent à nouveau pour réapparaître si cette solution est acidifiée jusqu'à un pH de 5,2 par l'apport de CO<sub>2</sub>. Toutes ces transformations sont réversibles. Elles ne se produisent pas dans les poils staminaux soumis aux mêmes traitements et dans lesquels le déroulement des mitoses semble se poursuivre normalement, quelles que soient les conditions. Il est difficile d'affirmer que ces divers aspects sont également conformes au vivant. On admettra plutôt que la mitose peut se terminer malgré certaines perturbations dans ses caractéristiques normales: l'achèvement de la division, à lui seul, ne saurait donc être considéré comme la garantie d'une observation «conforme au vivant».

Les exemples précédents sont relatifs à des études qui portaient sur les phases terminales de la méiose dont l'analyse est relativement aisée; malgré cela, ils montrent l'incertitude que comporte l'appréciation du caractère vital d'une structure cellulaire. La difficulté sera plus grande encore si nous considérons les stades moins avancés de la méiose qui, dans des conditions expérimentales analogues, ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Les résultats de ceux-ci ne manquent pas de diversité. Chez certaines espèces, l'observation vitale révèle des structures chromosomiques analogues à celles que montrent les préparations fixées. Citons ainsi:

*Chorthippus curtipennis* — Spermatocytes (LEWIS et ROBERTSON 1916).

*Gymnadenia conopea* — Mégasporange (CHODAT 1924).

*Lilium candidum* — Cellules-mères des grains de pollen (LENOIR 1927).

*Equisetum variegatum* — Cellules-mères des spores (LENOIR 1934).

*Arion subfuscus* — Spermatocytes (WATTS 1952).

D'autres espèces, au contraire, montrent des discordances étonnantes, les structures observées vitalement ne recouvrant les figures classiques que dans les stades terminaux de la gamétogénèse. Citons:

*Samia cecropia* — Spermatocytes (GOLDSCHMIDT 1915, 1917).

*Dissosteira carolina* — Spermatocytes (CHAMBERS 1925).

*Psophus stridulus* — Spermatocytes (MICHEL 1944).

Dans ces derniers cas, les noyaux des spermatocytes que la fixation montre à des stades divers voisins du pachytène, présentent sur le vivant, outre le nucléole, quelques structures diffuses dont l'une, plus dense, est parfois assimilée à un chromosome hétéropycnotique. Seuls les noyaux en fin de diacinese peuvent être reconnus, avec leur structure caractéristique, dans l'observation vitale.

On pourrait imaginer que la difficulté d'observer, sur le vivant, les formations caractéristiques du matériel fixé, tient uniquement aux conditions imparfaites de l'observation vitale. En effet, les contrôles multiples que permet la variété des méthodes cytologiques confèrent à ces dernières une spécificité qui fait ici cruellement défaut. Notons cependant que les observations de MICHEL ont été faites en contraste de phase, c'est à dire avec une méthode qui, sans être très spécifique, manifeste une sensibilité considérable. D'autre part, l'observation vitale en lumière ultra-violette peut, moyennant des précautions que facilitent les objectifs modernes, révéler directement la localisation des acides nucléiques. Poursuivies grâce à l'emploi de cette technique, les études de BRUMBERG et LARIONOW (1946), celles de RIS et MIRSKY (1949), ont fourni des résultats superposables à ceux qu'apportent des méthodes moins élaborées. Ainsi, les spermatocytes de *Melanoplus femur-rubrum* montrent la structure du pachytène seulement lorsqu'ils ont été endommagés : ceci peut se produire, en particulier, si l'action du rayonnement ultra-violet est trop prolongée. En outre, grâce à l'emploi de certaines fixations, on a pu observer des figures chromosomiques beaucoup moins précises que les structures habituellement décrites. Ces structures sont obtenues par RIS et MIRSKY dans les spermatocytes de *Melanoplus* grâce à l'utilisation d'une fixation formolée, complétée par l'action de l'acétate de lanthane. MAKAROV (1953) décrit des figures analogues dans les spermatocytes de Grenouilles et de Tritons fixés par un mélange d'acide osmique et de lactate ferrique.

Après ces fixations, la réaction de Feulgen donne, dans les noyaux de la prophase méiotique, des colorations diffuses ou révèle des structures mal délimitées. Les noyaux métaphasiques, en revanche, contiennent des chromosomes reconnaissables, moins condensés toutefois. Le réactif de Millon, agissant sur des noyaux prophasiques fixés de cette façon, révèle également une répartition diffuse des protéines nucléaires. Notons enfin que de tels aspects ont souvent été observés, même après l'action des fixateurs acides, en particulier dans la gaméto-génèse des Diptères (WOLF 1941, COOPER 1950). Ainsi l'absence de formations chromosomiques définies ne se présente pas uniquement dans l'observation vitale en lumière ordinaire. On ne peut donc attribuer cet aspect au seul défaut de spécificité inhérent à la méthode utilisée : il résulte, en fait, des caractéristiques propres à certains noyaux, se révélant dans des conditions déterminées. Il reste à savoir si cette structure est conforme à celle du noyau vivant ou si elle résulte de la transformation de celui-ci sous l'influence des conditions d'observation.

On remarquera tout d'abord que la présence de noyaux homogènes a été notée au cours d'observations qui, parmi l'ensemble des méthodes utilisées par les auteurs, impliquaient les stimulations expérimentales

les plus faibles. C'est ainsi que nous avons vu ces structures, sur des animaux entiers, observées à travers la paroi du corps; que GOLD-SCHMIDT (1917) les a décrites dans des follicules entiers de *Samia cecropia*. En revanche, les structures chromosomiques deviennent visibles dans les cellules qui ont subi des traitements manifestement mortels. C'est le cas chez *Caenorhabditis elegans*; chez *Dissosteira carolina*, CHAMBERS fait apparaître les chromosomes dans les spermatocytes en piquant les cellules qui ne tardent pas à périr. L'apparition des chromosomes paraît donc, dans ces cas particuliers, liée à une évolution mortelle.

Que l'action du fixateur puisse faire naître, dans le noyau, des structures précédemment inexistantes c'est ce que prouve l'apparition des multiples formations du type nucléolaire qui se constituent, dans les ovocytes diacinétiques de *Caenorhabditis elegans*, sous l'action des fixateurs acides. Le processus qui donne naissance à ces structures s'éclaire parfaitement si l'on considère l'évolution du nucléole et les conditions dans lesquelles s'opère la fixation de cette structure. On a vu, en effet, dans les derniers moments de l'évolution ovocytaire, le nucléole jusqu'alors nettement délimité par rapport au suc nucléaire, se fondre dans ce dernier, leurs limites réciproques devenant imprécises. Il semble que deux phases, précédemment séparées, deviennent miscibles à ce moment; la diffusion, s'opérant de proche en proche, conduit d'abord à la disparition d'une limite nette entre les deux phases, jusqu'au moment où l'homogénéité complète se trouvera réalisée. Si la fixation intervient sur un noyau dans lequel cette transformation est en cours, le nucléole se reconstituera immédiatement: la miscibilité des deux phases en présence a donc de nouveau disparu. Si la fixation intervient plus tardivement, tandis que le contenu nucléolaire a diffusé dans tout le nucléoplasme, la démixtion prend l'allure d'une précipitation: de nombreuses granulations se forment, elles tendent à s'agglutiner et à se fixer sur les chromosomes. La liaison, antérieurement constatée, entre des formations nucléolaires dispersées et les structures chromosomiques, est donc dépourvue de signification vitale; elle paraît être la conséquence purement physique des conditions dans lesquelles s'opèrent un phénomène de démixtion et l'agglutination consécutive des particules qui en résultent.

Ce schéma d'un processus de démixtion peut-il s'appliquer à la naissance des formations chromosomiques? C'est ce qu'admettent des théories anciennes auxquelles semble se rallier MAKAROV (1953). D'après ces opinions, la structure du noyau prophasique serait celle d'une solution colloïdale capable de donner naissance, sous l'action de stimulations appropriées, à des structures chromosomiques définies. La considération des différences multiples qui distinguent les chromosomes des formations nucléolaires montre, cependant, qu'une assimilation sans nuances négligerait à coup sûr les caractéristiques essentielles de la

structure chromosomique. Les propriétés de cette structure qui se manifestent, après la fixation, par la constitution de figures déterminées dans leur nombre, leur configuration et leur succession, contrastent avec la variabilité du nombre et des dimensions des formations nucléolaires dont l'aspect reste, par ailleurs, toujours très simple et peu caractéristique. D'après MAKAROV — qui s'appuie sur l'étude de testicules de Vertébrés dans lesquels les stades nucléaires accusent une disposition concentrique autour de la lumière du tube séminifère — la succession des figures chromosomiques de la prophase méiotique répondrait, en réalité, à la vitesse limitée de la pénétration du fixateur. Il est clair qu'une telle explication ne peut être appliquée au cas de gonades, comme celles des Nématodes ou des Insectes, dans lesquelles la disposition concentrique est remplacée par une sériation longitudinale. Il faudrait admettre alors que la précipitation de structures chromosomiques définies à partir d'une solution colloïdale révèle, dans cette solution, un type d'organisation et une évolution dont nous ne possédons aucun autre modèle. Peut-être est-il présumptueux d'écartier ce genre d'hypothèse en toutes circonstances. Mais, dans le cas de la prophase méiotique de *Caenorhabditis elegans*, il nous semble impossible d'admettre que des propriétés d'un dynamisme aussi spécifique pourraient être conservées après fixation.

Or nous avons constaté que la formation de chromosomes visibles peut se faire, non seulement à partir d'un noyau vivant, mais également, sous l'action de l'hydrolyse chlorhydrique, à partir d'un noyau fixé. Dans le cas qui nous occupe, l'hypothèse de la précipitation des chromosomes à partir d'une solution colloïdale nous paraît donc devoir être exclue. Il semble nécessaire d'admettre, pour le moins, l'existence dans les noyaux diacinetiques de formations, caractérisées par leur nombre et leurs propriétés, qui correspondent évidemment aux formations chromosomiques. Quelle peut-être la structure de ces formations chromosomiques vivantes ?

RIS et MIRSKY (1949) admettent que les chromosomes se trouveraient, dans le noyau vivant, sous une forme étendue (*extended state*), emplissant la totalité de l'espace nucléaire. L'évolution vers la métaphase consisterait en une condensation qui ferait apparaître les limites d'éléments jusqu'alors conflents. Une transformation analogue pourrait se produire, sous l'action des électrolytes, au moment de la mort de la cellule. L'hypothèse de RIS et MIRSKY, fondée sur les propriétés des gels de nucléohistone, rend compte aisément des possibilités de modifier réversiblement, par divers moyens, l'aspect des structures chromosomiques.

Les expériences de BÉLAŘ (1929) avaient déjà montré qu'une légère hypotonie détermine un gonflement des chromosomes métaphasiques avant de les rendre invisibles. Nos expériences ont montré également

que les chromosomes n'apparaissent, dans le noyau en prophase méiotique, que lorsque celui-ci a subi une transformation par rapport à ce qui nous paraît être sa structure du vivant. La possibilité d'établir une sériation progressive, entre des hétérogénéités confuses souvent visibles sur le noyau vivant et les figures chromosomiques, peut être considérée comme un argument à l'appui de la thèse d'après laquelle ces transformations résideraient essentiellement en une condensation. Nous noterons cependant que cette interprétation ne repose encore que sur la comparaison d'une série de préparations fixées: il n'a pas été possible de voir se produire, sous le microscope, cette condensation progressive supposée par l'hypothèse de Ris et Mirsky. Au contraire, lorsque, dans un noyau moribond, on voit apparaître des structures chromosomiques, celles-ci possèdent d'emblée leurs dimensions définitives: dès leur apparition, et bien que leur contraste encore très faible permette à peine de les reconnaître, elles ont déjà atteint leur aspect caractéristique; la série des photographies de la fig. 11a—c le montre fort bien. Plutôt qu'une contraction, la transformation progressive de réfringence que subissent ces éléments traduirait des échanges de substances entre le suc nucléaire et une formation chromosomique déjà présente sous une forme voisine de l'aspect qu'elle prendra finalement. Pour concilier cette observation avec l'hypothèse de Ris et Mirsky, il faudrait admettre que la transformation que subissent les formations chromosomiques pourrait s'opérer en plusieurs temps: condensation d'abord, puis échange de substances entre le suc nucléaire et la structure sous sa forme nouvelle.

En définitive, il nous paraît nécessaire d'admettre que, dans les noyaux en prophase méiotique, chez *Caenorhabditis elegans* comme sans doute chez d'autres espèces, la structure vitale doit être sensiblement différente de celle que les préparations fixées nous ont habitués à connaître. Néanmoins cette structure vitale comporte la présence d'unités caractéristiques, dans leur nombre et dans leurs propriétés, qui correspondent aux chromosomes. Sous l'action de certaines stimulations, expérimentales ou vitales, ces formations se transforment en chromosomes caractéristiques. Dans l'état actuel des observations, la structure de ces formations peut être envisagée de diverses façons entre lesquelles de nouvelles recherches permettront seules de trancher.

Des conclusions analogues étaient déjà exprimées par CHAMBERS lorsqu'en 1925 il étudiait l'action de la piqûre sur des noyaux prophasiques. Cet auteur admettait comme «probable la supposition que les filaments chromatiques du noyau prophasique sont déjà présents quoique invisibles». L'évolution du noyau prophasique comporterait d'après lui trois stades successifs:

1. Au premier stade, les noyaux réagissent (*à la piqûre*) en produisant des éléments granulaires, grêles qui se raccourcissent en bâtonnets d'apparence homogène.

2. Au second stade, la blessure produit l'apparition brusque de chromosomes typiques de prophase qui se transforment bientôt en chromosomes typiques de métaphase;

3. Au troisième stade, les chromosomes prophasiques sont déjà visibles dans le noyau non blessé. L'effet de la blessure est simplement d'accentuer leur visibilité et d'accélérer leur transformation en chromosomes métaphasiques compacts (1925).

Le terme de «filament chromatique» utilisé par CHAMBERS correspond aux chromosomes sous forme étendue de RIS et MIRSKY, aux unités dont nous supposons l'existence sans pouvoir nous prononcer sur leur structure. Les moyens dont dispose la cytologie moderne devraient permettre d'acquérir, sur ce point, des précisions indispensables.

Il est évident que le résultat de telles analyses est susceptible d'intervenir dans toute théorie de la méiose. Dans l'hypothèse d'une intervention déterminante au moment de la fixation, on trouverait peut-être une explication aux différences constatées entre les prophanes méiotiques de diverses espèces. L'absence des figures caractéristiques chez de nombreux Diptères, chez la Drosophile en particulier, s'explique peut-être par des particularités d'ordre secondaire intervenant sous l'action du fixateur. Concentrées sur l'analyse de la prophase, de telles études permettraient, sans doute, d'approcher de sa solution le problème difficile de la structure du noyau quiescent. L'emploi de méthodes nouvelles, descriptives et expérimentales, constitue à coup sûr la seule voie susceptible de nous apporter, sur ces divers points, des éclaircissements fort nécessaires.

#### Résumé.

1. Le Nématode *Caenorhabditis elegans* a été utilisé pour une étude des structures nucléaires, visibles sur le vivant ou après fixation, dans l'ovogénèse. Cette espèce constitue un objet particulièrement favorable pour ce genre d'étude. Il permet, en effet, d'observer les structures nucléaires sur l'animal entier. De plus les stades successifs de l'ovogénèse s'y trouvent disposés en une file unique. L'observation vitale a été pratiquée, en contraste de phase, dans des conditions diverses (animal entier, gonade disséquée, etc.). Elle a été complétée par l'étude de la fixation, sous le microscope. Des comparaisons ont été effectuées, sur préparations colorées, entre les aspects observables en éclairage ordinaire et en contraste de phase.

2. Après fixation classique et coloration de Feulgen, on retrouve les figures chromosomiques habituelles de la prophase méiotique; en particulier, pachytène, tétrades en croix et bivalents. L'analyse de la sériation montre, cependant, quelques particularités qui paraissent indiquer une évolution chromosomique non conforme à celle que prévoit la théorie chiasmatypique sous sa forme classique.

3. Sur le noyau vivant, par contre, on ne peut observer aucune des structures qui caractérisent habituellement la diacénèse. L'interprétation des figures nucléaires, en contraste de phase, présente de grandes difficultés par suite de la superposition d'images de diffraction dues au cytoplasme sous-jacent. Toutefois, quelques taches sombres, assez étendues, aux contours imprécis, pourraient être homologuées aux chromosomes: leur aspect, très différent de celui que montrent les structures classiques, doit cependant inciter à des réserves au sujet de cette homologation.

4. Les figures chromosomiques apparaissent dans le noyau lorsqu'on fait subir à la gonade des altérations mortelles: rupture de sa paroi, isolement des noyaux, dessication, etc. La plupart des fixateurs, les fixateurs acides en particulier, déterminent des transformations analogues. Par contre, les solutions d'acide osmique, non additionnées d'acide acétique, permettent de conserver au noyau une structure très proche de celle du vivant.

5. La fixation par l'acide acétique faible entraîne, en outre, d'autres transformations. Il apparaît dans le noyau de multiples granulations très petites, agitées d'un mouvement brownien rapide, qui, en l'espace de quelques secondes, s'agglomèrent pour former des amas plus importants. L'application de la réaction de Feulgen, à des préparations ainsi obtenues, montre que ces amas comportent généralement l'accolement d'une formation chromosomique avec des structures de nature différente, analogues à des formations nucléolaires.

6. Les noyaux fixés par l'acide osmique peuvent conserver leur structure après montage au sirop de lévulose. Mais d'autres traitements restent susceptibles d'y faire apparaître des formations de type chromosomique. C'est ce qui se produit, en particulier, lors de l'hydrolyse chlorhydrique que comporte la réaction de Feulgen.

7. Les observations précédentes conduisent à penser qu'en fin d'ovogénèse la structure du noyau vivant est, chez *Caenorhabditis elegans*, sensiblement différente de celle que montre le noyau fixé. Il paraît vraisemblable, toutefois, que le noyau vivant contient déjà un nombre déterminé de structures homologues aux formations chromosomiques classiques et dont la transformation, sous l'action de stimulations vitales ou expérimentales, conduit à l'apparition des chromosomes.

#### Bibliographie.

- BÉLAŘ, K.: Die cytologischen Grundlagen der Vererbung. In Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. 1c. Berlin: Gebrüder Borntraeger 1928. — Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. II. Untersuchungen an den Spermatocyten von *Chorthippus (Stenobothrus) lineatus* PANZ. Roux Arch. 118, 359—484 (1929). — BRUMBERG, E. M., and L. T. LARIONOW: Ultra-violet absorption in living and dead cells. Nature (Lond.) 158, 663—664 (1946). — CHAMBERS, R.: Some physical

properties of the cell nucleus. *Science* (Lancaster, Pa.) **40**, 824 (1914). — Microdissection studies on the germ cells. *Science* (Lancaster, Pa.) **41**, 290 (1915). — The physical structure of protoplasm as determined by microdissection and injection. In *General Cytology*. Univ. Chicago Press **1924**, 237—309. — Études de microdissection. IV. Les structures mitochondriales et nucléaires dans les cellules germinales mâles chez la Sauterelle. *Cellule* **35**, 107—124 (1925). — CHODAT, R.: La caryocinèse et la réduction chromatique observées sur le vivant. *C. r. Soc. Physique Hist. natur. Genève* **41**, 96—99 (1924). — COOPER, K. W.: Normal spermatogenesis in *Drosophila*. In: *Biology of Drosophila* S. 1—61. New York: Wiley & Sons 1950. — CRETSCHEMAR, M.: Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese von *Orygia thyellina* BTL. und *antiqua* L. sowie eines ihrer Bastarde. *Z. Zellforsch.* **7**, 290—399 (1928). — DARLINGTON, C. D.: Recent advances in cytology, 2. edit. London: Churchill 1937. — DELAVault, R.: Étude cytologique des acides nucléiques chez un Nématode libre (*Rhabditis elegans* MAUPAS 1900). *Arch. d'Anat. microsc.* **41**, 41—68 (1952). — DOUGHERTY, E. C., and V. NIGON: The effect of acriflavine on the growth of *Rhabditis elegans* MAUPAS. *Congr. Intern. Zoologie*, Copenhague 1953. (Sous presse.) — GOLDSCHMIDT, R.: Some experiments on spermatogenesis in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1**, 220—222 (1915). — Versuche zur Spermatogenese in vitro. *Arch. Zellforsch.* **14**, 421—450 (1917). — HEARNE, F. M., and C. L. HUSKINS: Chromosome pairing in *Melanoplus femur-rubrum*. *Cytologia* **6**, 123—147 (1935). — KITE, G. L., and R. CHAMBERS: Vital staining of chromosomes and the function and structure of the nucleus. *Science* (Lancaster, Pa.) **86**, 639. — KNABEN, N.: Spermatogenese bei *Tischeria angusticolella* DERF. *Z. Zellforsch.* **13**, 290—323 (1931). — LENOIR, M.: Observation vitale des cinéses polliniques dans le *Lilium candidum* L. *C. r. Acad. Sci. Paris* **184**, 1164—1166 (1927). — Étude vitale de la sporogenèse et des phénomènes électro-magnétiques concomitants chez l'*Equisetum variegatum* SCHLEICH. *Cellule* **42**, 353—409 (1934). — LEWIS, M. R., and W. R. B. ROBERTSON: The mitochondria and other structures observed by the tissue culture method in the male germ cells of *Chorthippus curtipennis* SCUDD. *Biol. Bull.* **30**, 99—114 (1916). — MAKAROV, P. V.: Critique des bases cytologiques de la théorie chromosomique de l'hérédité (Trad. franç.). Dans: *Questions scientifiques* (Editions de la Nouvelle Critique, Paris) **2**, 81—106 (1953). — MARTENS, P.: Étude expérimentale des chromosomes sporocytaires dans le *Tradescantia*. *Bull. Acad. roy. Belg., Cl. Sci.* **15**, 160—169 (1929). — Étude expérimentale des sporocytes de *Tradescantia*. II. Action du «suc» de la plante sur les cellules vivantes. *Z. wiss. Mikrosk.* **51**, 88—102 (1934). — MICHEL, K.: Die Reifeteilungen (Meiose) bei der Spermatogenese der Schnarrheuschrecke (*Psophus stridulus* L.). Institut für Film und Bild in Wissenschaft und Unterricht. Göttingen 1944. — NIGON, V.: Modalités de la reproduction et déterminisme du sexe chez quelques Nématodes libres. *Ann. Sci. natur.* **11**, 1—132 (1949). — RIS, H., and A. E. MIRSKY: The state of the chromosome in the interphase nucleus. *J. Gen. Physiol.* **32**, 489—502 (1949). — SAKAMURA, T.: Chromosomenforschung an frischen Material. *Protoplasma* **1**, 537—565 (1927). — SHIWAGO, P.: Über die Beweglichkeit der Fadenstrukturen im lebenden „Ruhekerne“ der Froschleukocyten. *Biol. Zbl.* **46**, 679—685 (1926). — WATTS, A. H. G.: Spermatogenesis in the slug, *Arion subfuscus*. *J. of Morph.* **91**, 53—78 (1952). — WOLF, E.: Die Chromosomen in der Spermatogenese einiger Nematoceren. *Chromosoma* **2**, 192—246 (1941).

Prof. Dr. V. NIGON, Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences de Lyon,  
16, Quai Claude-Bernard, Lyon, France.

From the Department of Zoology, Birla College of Science, Pilani (India).

## STUDIES ON THE SPERMATOGENESIS OF INDIAN HOMOPTERA.

### I. MEIOSIS IN TWO SPECIES OF EURYBRACHIS (FULGORIDAE).

By

S. R. VENKATASUBBA RAO.

With 24 figures in the text.

(Eingegangen am 3. Juli 1954/7. Februar 1955.)

#### Introduction.

BORING (1907) studied the spermatogenesis in some homopteran insects of the family *Fulgoridae* and found that the sex chromosome mechanism is of the XO ( $\delta$ ) type. This is the general pattern of sex chromosome mechanism in the Auchenorrhyncha (WHITE 1954). However, in five species of the genus *Aphrophora* of the family *Cercopidae* (MISRA 1937, KUROKAWA 1953) and in *Enchenopa binotata* of the family *Membracidae* (KORNHAUSER 1914) the sex determining mechanism is of the XY type. WHITE (1954) remarks that it is not clear if these cases represent instances of recent reversion from XO systems. The uncertainty of the origin of the XY mechanism made it seem to be of interest to study the sex chromosomes of as many species of Homoptera as possible. The present paper deals with two species of the genus *Eurybrachis*, *E. tomentosa* (FABR.) and *E. apicalis* (WLK.) of the family *Fulgoridae*. While they differ from each other in certain features, both, in contrast to the other known species of the family, possess a sex chromosome mechanism of the XY type.

#### Materials and Methods.

Males of the two species were collected in Bangalore during the months of December 1952 and January 1953. Individuals in the last nymphal instar were used to obtain spermatogonial stages. The testes, situated posteriorly and brick-red in colour, were fixed in Carnoy's fluid and Bouin's B 15. Both, squashes and sections were made and stained with iron hematoxylin or by the Feulgen technique.

#### Observations.

##### a) *Eurybrachis tomentosa* (FABR.).

The spermatogonial metaphases contain  $2n = 26$  chromosomes (Fig. 1), all of which are stained with the same intensity. With the applied staining methods it is not possible to identify the sex chromosomes.

Differences between autosomes and sex chromosomes are evident for the first time during the early spermatocyte stages, when the sex chromosomes are recognizable as an irregularly shaped mass exhibiting positive heteropycnotic and the autosomes appear as lightly staining threads. The pairing is distinctly visible and throughout pachytene the identity of the autosomes is clear (Fig. 2), especially at the chromosome ends. Even in the following diffuse stage the deeply stained heteropycnotic ends of the autosomes are seen abutting against the nuclear membrane (Fig. 3).

After the diffuse stage the chromosomes reappear. The sex chromosome mass becomes transformed into loops and in very good preparations it is possible to make out the pairing between X and Y along certain parts of their length (Fig. 4). There is a single chiasma between them. At the same time this sex bivalent seems to associate with one of the autosomal bivalents. The nature of this association is difficult to understand in earlier stages. But in diakinesis it is clearly visible as a terminal contact of the bivalents (Fig. 5). This association lasts till metaphase I, when both bivalents are independently arranged on the metaphase plate (Fig. 6a and b). Evidently the association of non-homologous bivalents does not in any way affect regular division.

A polar view of metaphase I shows 13 bivalents. They appear in general as round bodies (Fig. 6b), but in a few metaphase plates some of the bivalents have dumb-bell shape (Fig. 7).

Segregation is normal and the movement of the dyads is synchronous (Fig. 8b). Thus, two kinds of secondary spermatocytes are produced, each having 13 chromosomes, among them either X or Y (Figs. 8a, 9).

The interkinetic nucleus is of some interest. Though all the chromosomes are separate and lie independent of each other, some seem to be situated side by side. These are the two chromatids of dyads which had been separated and approach each other again in a process of re-pairing. Configurations like these must be considered the result of auto-orientation (Fig. 10).

#### b) *Eurybrachis apicalis* (WLK.).

This species has the same chromosome number, i.e.  $2n = 26$ . The sex chromosomes can not be identified in the spermatogonial metaphase (Fig. 11).

Most of the features described for *E. tomentosa* are also characteristic of this species. But there are some important differences and only these will be dealt with below.

The paired state of the autosomes in pachytene is not clearly visible and the individuality of the chromosomes is obscured by their woolly

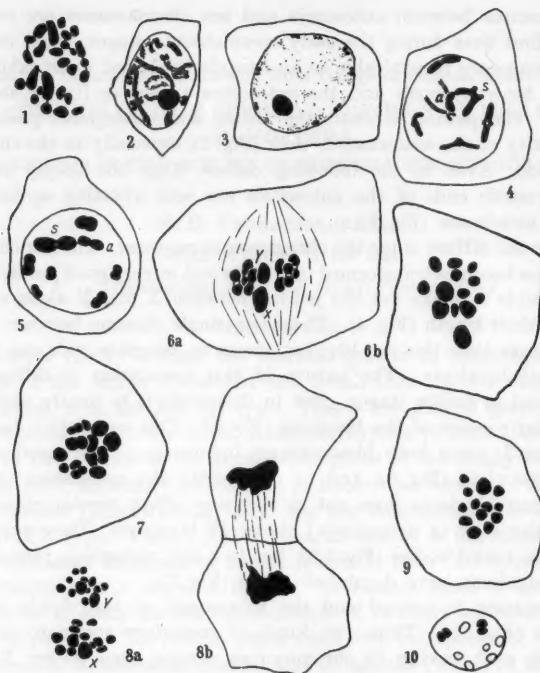
Figs. 1—10<sup>1</sup>. *Eurybrachis tomentacea*.

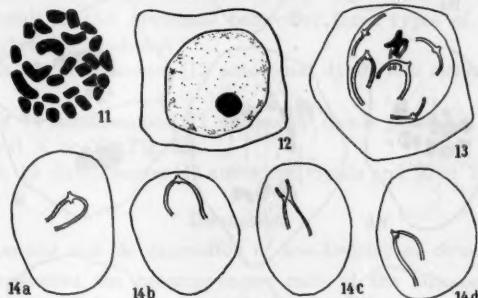
Fig. 1. Polar view of spermatogonial metaphase showing 26 chromosomes. The sex chromosomes are not clearly seen (Hematoxylin preparation). — Fig. 2. Pachytene nucleus showing the paired autosomes with their characteristic pycnotic ends. The sex chromosomes appear as a dark staining mass (Feulgen preparation). — Fig. 3. Diffuse stage. Only the pycnotic ends of the autosomes are seen abutting against the nuclear membrane. The sex chromosome continues to form a dark staining mass (Feulgen preparation). — Fig. 4. Diplotene nucleus showing the autosome bivalents held together by chiasmata. One of the autosome bivalents (a) forms an association with the sex bivalent (s) (Hematoxylin). — Fig. 5. Diakinetie nucleus clearly showing the association between the non-homologous chromosomes (Feulgen). — Fig. 6a. Metaphase I, side view. The sex bivalent is seen clearly, without association with any of the autosome bivalents. X is slightly but unmistakably larger than Y (Hematoxylin). — Abb. 6b. Same, polar view. All the 13 bivalents appear as round bodies (co-orientation). All are distributed independently of each other (Hematoxylin). — Fig. 7. Metaphase I, polar view. Some of the autosome bivalents appear dumb-bell shaped (auto-orientation) (Hematoxylin). — Fig. 8a. Anaphase I, polar view. The bivalents segregate to opposite poles (Hematoxylin). Fig. 8b. Telophase I, showing synchronous movement of all chromosomes. — Fig. 9. Metaphase II, polar view, showing 13 chromosomes, either the X or Y being included (Hematoxylin). — Fig. 10. Interphase nucleus, the disjoined two chromatids of each dyad again coming together in a process off secondary pairing (Feulgen).

<sup>1</sup> All figures are reproduced at a magnification of 2300 $\times$  except figs. 4 and 5 which are magnified 1900 $\times$ .

nature which is very conspicuous from the beginning of primary spermatocyte growth until diplotene. At diplotene the autosome bivalents are distinctly observable, they are held together by chiasmata (Fig. 13).

In the diffuse stage, in contrast to *E. tomentosa*, the ends of the autosomes are not heteropycnotic (Fig. 12).

Remarkable is the occurrence of an unequal bivalent (Fig. 14a—d) which could be observed in all diplotene nuclei. The difference in length between the two members of the bivalent is approximately  $2.7 \mu$  (mean from 12 nuclei taken at random). This difference is evident



Figs. 11—14. *Eurybrachis apicalis*.

Fig. 11. Spermatogonial metaphase showing 26 chromosomes (Hematoxylin). — Fig. 12. Diffuse stage. The characteristic pycnotic ends as seen in *E. tomentosa* are absent (Feulgen). — Fig. 13. Diplotene stage showing the autosome bivalents held together by chiasmata. The "unequal bivalent" is also visible. The sex chromosomes are united by a chiasma (Hematoxylin). — Fig. 14a—d. Various configurations of the "unequal bivalent" (Hematoxylin).

only in diplotene and can not be observed in the preceding and the following stages. This is probably due to the diffuse nature of the autosomes in the early stages, and to the condensation of nucleic acid and the spiralisation in later stages, when these processes reach their maximum.

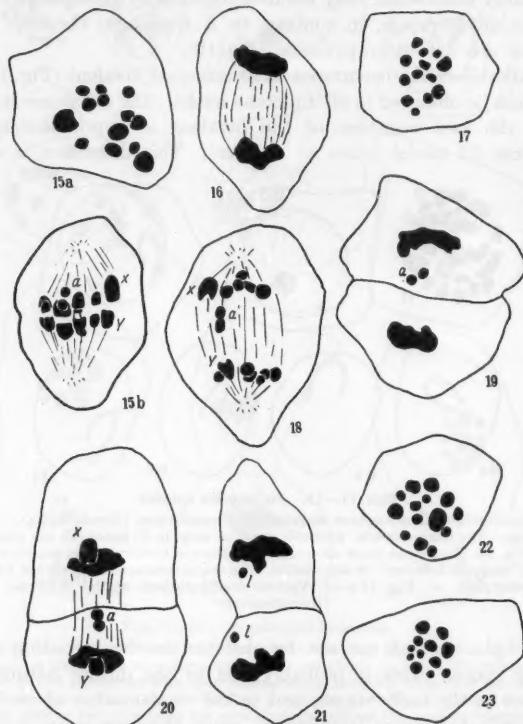
There are 13 bivalents in metaphase I, all of which appear as round bodies (Fig. 15 a, b, comp. *E. tomentosa*).

Normally all the bivalents segregate to opposite poles giving rise to secondary spermatocytes with 13 chromosomes including either X or Y (Figs. 16, 17). But in a certain percentage (Table 1) one of the autosomal bivalents lags on the spindle (Fig. 18).

Depending upon the extent of lagging we find two situations:

(1) Non-disjunction (Figs. 19, 20). The bivalent remains in or near the equator of the spindle long after the other chromosomes have reached the poles. As a result the bivalent is included in one of the daughter nuclei.

(2) Less pronounced lagging. The bivalent segregates into two univalents which follow, though slowly, the other univalents to the



Figs. 15—23. *Eurybrachis apicalis*.

Fig. 15 a. Metaphase I, polar view. All the bivalents appear round (Hematoxylin). — Fig. 15 b. Same, side view. X and Y are clearly seen. Already one of the autosome bivalents (a) shows signs of non-disjunction. — Fig. 16. Anaphase I, showing normal type of segregation (Hematoxylin). — Fig. 17. Metaphase II, showing 13 chromosomes (Hematoxylin). — Fig. 18. Anaphase I, showing non-disjunction of an autosome bivalent (a). The sex chromosomes are seen at their respective poles. Situation (1) in table I. (Hematoxylin). — Fig. 19 and 20. Telophase I, showing the autosome bivalent (a) still near the equator, but incorporated in one of the two daughter cells (Hematoxylin). — Fig. 21. Telophase I, showing the lagging chromosomes (l), situation (2) in table I (Hematoxylin). Fig. 22. Metaphase II, with 14 chromosomes (diploid in regard to one autosome) (Hematoxylin). — Fig. 23. Same with 13 chromosomes (deficient for an autosome) (Hematoxylin).

respective poles (Fig. 21). The result is a late segregation, both dyads appearing as distinct bodies separated from the telophase groups.

It has been possible to count the number of such variations in a rather large material. The data are given in Table 1.

Table 1.

	Anaphases I examined	Normal segregation	Non-disjunction (1)	Intermediate condition (2)
Numbers . . . . .	171	119	44	8
Percentage . . . . .		69.6	25.7	4.7

As a result of this abnormal behaviour three types of secondary spermatocytes are produced:

(1) with 13 chromosomes (12 autosomal dyads and either X or Y. Fig. 17).

(2) with 14 chromosomes (11 autosomal dyads plus one autosomal bivalent and X or Y. Fig. 22).

(3) with 12 chromosomes (11 autosomal dyads and X or Y. Fig. 23).

#### Discussion.

##### *Heteropycnosis and the association of non-homologous chromosomes.*

In *E. tomentosa* the heteropycnotic ends of the autosomes lie in contact with the nuclear membrane during the diffuse stage. SCHRADER (1941) reports peripheral aggregation of heteropycnotic elements in the meiosis of *Edessa irrorata*. He attributes this condition to mutual attraction which is exerted only for a short period and is replaced by repulsion later on. CASPERSSON and SCHULTZ (1938) offer a cytochemical explanation for this phenomenon and suggest that heterochromatin is especially active in synthesis of nucleic acid. Therefore, unless the problem is viewed from a cytochemical standpoint it is rather difficult to give any explanation.

Another constant feature in *E. tomentosa* is the association between the sex chromosome bivalent and an autosomal bivalent present in practically all diakinetic nuclei. It is rather difficult to decide if it is always the same autosomal bivalent which becomes associated.

SLACK (1938) has reported such associations between non-homologous chromosomes in several species of *Corixidae*. There the association always takes place between more than two bivalents. But in the case of *Eurybrachis* always only one autosomal bivalent participates in the association which ends just before metaphase so that it does not affect normal division. SCHRADER (1941) describes non-homologous association in *Edessa irrorata*. BOSE (1948) observed the same phenomenon both in spermatogonial and spermatocyte divisions of the beetle *Epilachna vigintioctopunctata*. Such non-homologous associations occur

also in the grasshopper *Gesonia punctifrons* (CHAUDHURI and MANNA 1950).

An examination of the situation in *Eurybrachis* leads one to the conclusion that it is caused by non-homologous attraction of heterochromatic ends of the bivalents. However, since the ends of all chromosomes are heterochromatic but only one becomes attached to the sex bivalent this association can not be an expression of a general tendency of heterochromatic regions to attract each other as in the well known instance of the chromocenter in salivary gland chromosomes of *Drosophila*. Apparently we are dealing here not with a non-specific attraction as in the case of *Corixidae* spermatocytes, but with a specific affinity of the ends of one bivalent to the sex chromosomes, the nature of which is unknown.

#### *Orientation of bivalents on the spindle.*

HELENIUS (1952) found that the orientation of bivalents in Hemiptera is of two types. In the majority of Heteroptera and, among the Homoptera, in the Auchenorrhyncha the autosomes segregate in the first meiotic division, while in the male sternorrhynchous Homoptera the autosomes as well as the sex chromosomes segregate in the second division. This differential behaviour is attributed to the fact that pre- or post-reduction depend on the manner in which the bivalents are oriented on the spindle. In *E. tomentosa* most of the metaphases I in polar view show the bivalents as roundish bodies, but some of the bivalents appear dumb-bell shaped. The former show co-orientation, the latter auto-orientation. The consequences of these modes of orientation have been discussed by DARLINGTON (1937) and, more recently with particular reference to Hemiptera, by HELENIUS (1952). The interest of the present case lies in the fact that, though *E. tomentosa* belongs to the Auchenorrhyncha, both situations are represented in it, the majority of autosome bivalents being co-oriented and thus segregating in the first division, but some showing auto-orientation and segregation in the second division.

In co-oriented bivalents the chiasmata are broken up in anaphase I while they are preserved (as half-chiasmata) until second anaphase in the auto-oriented ones. The distinction between the two types of orientation is clearly recognisable in interkinetic nuclei. As a consequence of auto-orientation the two chromatids held together only terminally by the half-chiasma re-pair before they separate in the second division (touch and go), while as a consequence of co-orientation the chromatids not united by a chiasma (which had been broken up in anaphase I) remain separate as far as they are not held together in part of their length by pairing conditions controlled by the diffuse centromere. In an analysis of 22 species of Auchenorrhyncha HELENIUS

has shown that in no case of spermatogenesis auto-orientation of autosomal bivalents occurs. *E. tomentosa* represents an example where this phenomenon occurs at least in part.

*Non-disjunction of an autosomal bivalent in E. apicalis.*

The aberrant behaviour of an autosomal bivalent during the first division has been referred to above. In about 26% it leads to complete non-disjunction resulting in the production of two kinds of abnormal secondary spermatocytes. One of them cannot give rise to normal spermatids since one autosome is absent from the haploid set. From the other kind also no normal spermatids can be expected since they are diploid for the autosome in question. Segregation of the two homologues in division II would restore the number of chromosomes but not of chromatids. During the examination of a large material I have never found any case of deviation from the normal diploid number 26. Therefore, it is more likely that the spermatids which lack an autosome or possess it in duplicate do not produce spermatozoa at all, or, if they do, that these are so abnormal as not to take part in fertilization. The occurrence of large quantities of pycnotic and degenerating cells found in the testes of this species supports the former conclusion.

*The sex chromosomes and the origin of the XY mechanism  
and the unequal bivalent.*

The identification of sex chromosomes of the XY-type in *Eurybrachis* is conclusive for several reasons: The diploid number is even and no numerical variation occurs. There is complete and regular pairing of all the bivalents. X is slightly larger than Y as seen in side views of metaphase I plates. Sex chromosomes and autosomes can be distinguished for the first time at the onset of meiosis when X and Y fuse into a heteropycnotic mass from which they emerge in early diplotene as a bivalent united by a single chiasma. As has been stated above, the details of pairing and chiasma formation cannot be studied because of the intense nucleinisation in earlier stages.

This is the first report of the occurrence of the XY-mechanism in a fulgorid bug. All the species so far described: *Amphiscepa bivittata*, *Poecilopelta bivittata*, *P. pruinosa* and *P. septentrionalis* (BORING 1907), as well as *Pyrilla perpusilla* (RAO, unpublished) belong to the XO-type. Actually in the group of Auchenorrhyncha the XY mechanism occurs rarely (WHITE 1954).

It is a well known fact that in the evolution of the sex chromosomes the XO-mechanism has undoubtedly been derived from the XY condition. But a subsequent reversion to XY from XO is also known in a variety

of organisms (see WHITE 1954). According to WHITE such a reversion in general takes place by a special translocation (centric fusion) between X and an autosome, both being telocentric and the breaks occurring next to the centromeres in the long arm of one and the tiny arm of the other chromosome. This gives rise to a V-shaped X, one of whose arms consist of the original X and is heterochromatic, while the second arm is of autosomal origin and still euchromatic. The mate of the autosome involved becomes a "neo-Y" and is at first euchromatic throughout its length.

*Eurybrachis* may also be an example of reversion, since only the two species described in this paper belong to the XY-type. The actual

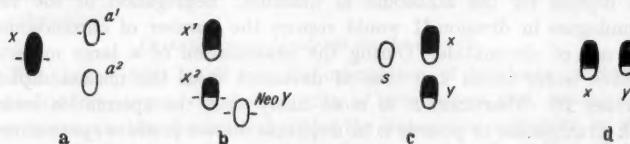


Fig. 24 a—d. Diagrammatic representation of reversion of XO to XY type. (Heterochromatin in black, euchromatin white, a dash represents the point of translocation breakage.) A Ancestral condition, a translocation between the X and an autosome  $a^1$  at the indicated points leads to b. b by a second translocation between  $X^2$  and the neo-Y gives rise to c. From c, by loss of the supernumerary, d can be derived. d represents the *Eurybrachis* situation.

process of reversion in this case is probably more complicated than that by centric fusion. It can be better compared to the possible origin of the XY mechanism in *Isagoras schraderi* as described by HUGHES-SCHRADER (1947) than to any other known so far. The assumed mode of reversion is diagrammatically represented in Fig. 24.

First, a translocation between X and an autosome  $a^1$  has taken place (Fig. 24a) with the result that the original X now bears a portion of the autosome ( $b: X^1$ ). The other translocation chromosome,  $X^2$ , undergoes a second translocation with  $a^2$ , the neo-Y (b), whereby a Y chromosome is produced. This now contains an autosomal section which is homologous to that present in the X (c). It is this homologous region in which chiasma formation occurs and which thereby ensures regular segregation of the two new sex chromosomes. The other product of the second translocation is a small supernumerary chromosome (iso-fragment). This is probably lost during the course of evolution (since no supernumerary chromosome has been found in these species), giving rise to the *Eurybrachis* condition (d). According to HUGHES-SCHRADER the genes present in the supernumerary chromosome must have been duplicated somewhere else in the complement, or else, the sections forming this chromosome must have been inert.

That structural changes do take place in *Eurybrachis* is demonstrated by the occurrence of the unequal bivalent in *E. apicalis*. It is therefore quite possible that through the translocations assumed the present XY condition in *Eurybrachis* has arisen from the ancestral XO-type by reversion.

The cytological situation in *Isogoras* is relatively easy to analyze. The euchromatic parts of the sex chromosomes are recognizable as such during meiotic prophase and the chromosomes owing to the presence of localized centromeres have definite shapes.

In *Eurybrachis* the analysis is more uncertain. The chromosomes here have diffuse centromeres and the euchromatic parts of the sex chromosomes cannot be seen. This may be caused by their small size which may be just large enough to bring about chiasma formation, or by a heavy coating of nucleic acid which prevents their recognition after application of the usual stain technique. The presence of homologous euchromatic parts both in X and in Y is, however, definitely proved by their pairing behaviour, the regular formation of a chiasma between them.

#### Summary.

1. The diploid chromosome number in males of *Eurybrachis tomentosa* and *E. apicalis* is 24+XY. These are the first instances of the occurrence of the XY mechanism in the *Fulgoridae*.

2. X and Y form a monochiasmatic bivalent in meiosis and segregate in the first division. This sex bivalent seems to undergo non-homologous association with one of the autosomal bivalents. The possibilities of such an association are discussed.

3. In *E. tomentosa* co-orientation of the bivalents is the rule, but at least some of the autosomal bivalents show auto-orientation. The consequences of both modes of orientation are discussed.

4. In *E. apicalis* non-disjunction of an autosomal bivalent occurs in about 26% of the spermatocytes reducing the number of functional gametes. An unequal bivalent present in all diplotene nuclei of this species proves that structural changes occur in the chromosomes of this genus.

5. The probable mode of origin of the XY-type of sex chromosome mechanism by reversion from XO is discussed.

#### Acknowledgements.

This work was begun in the Zoology Laboratory of Central College, Bangalore, under the guidance of Prof. B. R. SESHACHAR and completed later in the Zoology Laboratory of Birla College of Science, Pilani, under Prof. M. A. MOGHE. I wish to acknowledge my indebtedness to them for guidance.

## References.

- BORING, A. M.: A study of the spermatogenesis of twenty-two species of the *Membracidae*, *Jassidae*, *Cercopidae*, *Fulgoridae*, with special reference to the behaviour of the odd chromosome. *J. of Exper. Zool.* 4, 469—512 (1907). — BOSE, IRA: The association of non-homologous chromosomes in the spermatogenesis of lady bird beetle—*Epilachna vigintioctopunctata* (FAB.). *Proc. Zool. Soc. Bengal.* 1, 131—138 (1948). — CASPERSSON, T., and J. SCHULTZ: Nucleic acid metabolism of chromosomes in relation to gene reproduction. *Nature (Lond.)* 142, 294—295 (1938). — CHAUDHURI, S. P. RAY, and G. K. MANNA: On the frequency of association between non-homologous chromosomes in the grasshopper, *Gesonia punctifrons*. *J. of Exper. Zool.* 114, 421—434 (1950). — DARLINGTON, C. D.: Recent advances in cytology, 2nd ed. London 1937. — HELENIUS, O.: Bivalent orientation in Hemiptera. *Hereditas (Lund)* 38, 420—424 (1952). — HUGHES-SCHRADER, S.: Reversion of XO to XY sex mechanism in a phasmid. *Chromosoma* 3, 52—65 (1947). — Cytology of coccids. *Adv. Genet.* 2, 127—203 (1948). — KORNHAUSER, S. I.: A comparative study of the chromosomes in the spermatogenesis of *Enchenopa binotata* (SAY) and *E. curvata* (FAB.). *Arch. Zellforsch.* 12, 241—298 (1914). — KUROKAWA, HARUO: A study of the chromosomes in some species of the *Cicadidae* and the *Cercopidae* (Homoptera). *Jap. J. Genet.* 28, 1—5 (1953). — MISRA, A. B.: A study of chromosomes of the two species of spittle-insects belonging to the family *Cercopidae* (Homoptera). *J. Fac. Sci. Hokkaido, Ser. VI* 5, 255—264 (1937). — RIBBANDS, C. R.: Meiosis in Diptera. I. *J. Genet.* 41, 411—442 (1941). — SCHRADER, F.: Heteropycnosis and non-homologous association of chromosomes in *Edessa irrorata* (Hemiptera-Heteroptera). *J. of Morph.* 69, 587—604 (1941). — SLACK, H. D.: The association of non-homologous chromosomes in *Corixidae* (Hemiptera-Heteroptera). *Proc. Roy. Soc. Edinburgh*, B 58, 192—212 (1938). — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. 2nd ed. Cambridge Univ. Press. 1954.

S. R. VENKATASUBBA RAO, Dept. of Zoology, Birla College of Science, Pilani (Indien).

---

## REZIPROKE TRANSLOKATIONEN IN NATÜRLICHEN POPULATIONEN VON PURPURA LAPILLUS (PROSOBRANCHIA).

Von

HANSRUDOLF STAIGER \*.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Januar 1955.)

### I. Einleitung.

Von ROBERTSON (1916) ist an Orthopteren erstmals eine auffällige Gestalt- und Zahlbeziehung der Chromosomen von nahe verwandten Arten festgestellt worden (Konstanz der Zahl der Chromosomenarme bei verschiedener Chromosomenzahl). Die ROBERTSONSche Beziehung hat sich in der Folgezeit in zahlreichen anderen Tiergruppen feststellen lassen; ihre chromosomale Grundlage scheint einen weit verbreiteten Artbildungsmodus darzustellen, dessen Bedeutung der Polyploidie bei Pflanzen verglichen werden kann. Trotz umfassender Exemplifikation ist der der ROBERTSON-Beziehung zugrunde liegende chromosomale Mutationsprozeß nur sehr unsicher bekannt. Es bestehen dazu zur Zeit zwei Hypothesen: zentrische Fusion (im engeren Sinne) von strikten telozentrischen Chromosomen (ROBERTSON 1916, HELWIG 1941), und reziproke Translokation zwischen zwei nicht-homologen akrozentrischen Elementen unter Bildung eines neuen metazentrischen Chromosoms (unter anderen WHITE 1945). Beide Vorgänge sind mit gewissen Einschränkungen in beiderlei Richtungen denkbar ( $A + A \rightarrow M$  oder  $M \rightarrow A + A$ ); wahrscheinlicher ist generell die Entstehung von metazentrischen aus akro- oder telozentrischen Chromosomen, die in mehreren Fällen mit Sicherheit erwiesen werden kann. Beide Vorgänge und ihre prinzipiellen und chromosomenmechanischen Schwierigkeiten sind von verschiedenen Autoren mehrfach diskutiert worden (MATTHEY 1949, WHITE 1945, 1954).

Ein auffälliges Beispiel ROBERTSONScher Beziehungen auf intraspezifischer Grundlage ist kürzlich beim Prosobranchier *Purpura lapillus* dargestellt worden (STAIGER 1954). Der numerische Dimorphismus bei *Purpura* ( $N = 13$  und  $N = 18$ ) bildet auf ROBERTSONScher Basis die Grundlage eines stabilen genetischen Variationssystems in Beziehung zu den ökologischen Gegebenheiten des Habitats; die freie Vereinbar-

\* Mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und durch die Eidgenössische Kommission für die Biologische Station in Roscoff. Herrn Prof. G. TEISSIER (Paris) bin ich für die Aufnahme in der Biologischen Station von Roscoff zu bestem Dank verpflichtet.

keit der die Extremformen auszeichnenden Chromosomentypen gestattet durch die Bildung von heterogenen Populationen eine maximale Nutzung der gesamten besiedelten Zone der Gezeitenregion.

Neben den Variationen der chromosomal Konstitution, die auf den numerischen Dimorphismus zurückgehen, sind bei *Purpura* zahlreiche weitere cytogenetische Variationen aufzufinden. Es handelt sich um Strukturmutationen, welche außerhalb des normalen Variationssystems der Art vorkommen und allgemein weniger häufig und weniger verbreitet sind als die den Dimorphismus bestimmenden. Da spontane Chromosomenmutationen das Ausgangsmaterial zu intraspezifischen Differenzierungen liefern können, sind sie von gewisser Bedeutung in evolutiver Hinsicht. Die häufigsten solcher Strukturmutationen bei *Purpura lapillus* sind reziproke Translokationen. Translokations-heterozygote Tiere wurden mit der für natürliche tierische Populationen außergewöhnlich hohen Häufigkeit von rund 1% der Individuen angetroffen.

## II. Material und Technik.

Die für das Verständnis der heterogenen Konstitutionen notwendige chromosomale Grundlage des Dimorphismus bei *Purpura lapillus* ist bereits dargestellt worden (STAIGER 1954).

Es sei lediglich wiederholt, daß die Form 13 in ihrem haploiden Chromosomensatz 5 metazentrische Chromosomen (M) enthält, welchen 5 mal 2 akrozentrische Elemente (A) der Form 18 entsprechen; innerhalb der so bestimmten 5 AM-Chromosomengruppen I, II, III, IV und V sind sämtliche Kombinationen frei realisierbar. Heterzygotie für jede der AM-Gruppen führt zur Bildung eines charakteristischen Trivalents in der weiblichen Meiose, welches ebenfalls mit einem der Symbole I—V bezeichnet wird. Die 8 außerhalb des numerischen Dimorphismus stehenden Chromosomen unterscheiden sich in den beiden Formen höchstens intrachromosomal. — Zur Technik und zur Methodik der cytologischen Analyse muß auf die frühere Darstellung verwiesen werden.

Das vorliegende Material wurde im Verlauf einer Untersuchung über die chromosomale und morphologische Struktur von 7 Populationen von *Purpura lapillus* in der Umgebung von Roscoff (Bretagne, Frankreich) gewonnen. Eine Gesamtzahl von 933 Individuen wurde cytologisch untersucht; darunter fanden sich 11 translokations-heterozygote, von welchen 5 in der vorliegenden Darstellung als besonders charakteristisch berücksichtigt werden.

## III. Befunde.

### 1. Quadrivalente.

Translokations-heterozygote Individuen wurden in Populationen beider numerischen Typen von *Purpura*, ebenso in stark heterogenen Kolonien aufgefunden. Die günstigen chromosomal Bedingungen der weiblichen Meiose (Prometaphasestreckung) erlauben in der Mehrzahl der Fälle eine Bestimmung von Zahl und Lage der Chiasmen in den durch reziproke Translokation bedingten Konfigurationen. Je nach Lage der

Bruchstellen und der absoluten und relativen Länge der betroffenen Chromosomenarme ergeben sich verschiedene Konfigurationsformen.

Die weitaus häufigsten Meiosekonfigurationen bei Translokations-Heterozygoten sind nach Art der Abb. 1 gebildet. Die dargestellte Prometaphase enthält ein Quadrivalent (Viererkette) in einer für die



Abb. 1. Translokations-heterozygote Prometaphase, Konstitution: 11(2) + 1(3) + 1(4); Ausgangskonstitution (vor Translokation): 13(2) + 1(3). Trivalent: I (rechts außen); das Translokationsquadrivalent (4. Figur von links) in Kettenform (Non-Disjunction). 2400 x.

AM-Gruppe I heterozygoten und die Chromosomen  $M_{II}$ ,  $M_{III}$ ,  $M_{IV}$  und  $A_V$  homozygoten heterogenen Konstitution. Die die Viererkette aufbauenden Elemente sind möglicherweise am numerischen Dimorphismus teilnehmende M-Chromosomen, soweit sich auf Grund ihrer Größe beurteilen lässt. Ringförmige Konfigurationen wurden in dem betreffenden Individuum nicht angetroffen, hingegen zeigen die offenen Viererfiguren verschiedene Formen. Sie bestehen entweder aus zwei monochiasmatischen Teilbivalenten mit je einem freien Arm und einem gebundenen zweiten, der die terminal-chiasmatische Verbindung herstellt

(Kette; Abb. 1). Ein zusätzliches Chiasma in einem zweiten Arm baut das betreffende Teilbivalent zu einem Ringbivalent um (Abb. 2).

Die Deutung auf Grund einer reziproken Translokation (Abb. 3) geht von den Konfigurationsformen aus. Aus der Bildung einer offenen Kette (Abb. 3c) ergibt sich, daß eines der beiden Translokationssegmente in der heterozygoten Kombination ungepaart bleibt. Der Ringgestalt des einen Teilbivalents entspricht ein zusätzliches Chiasma

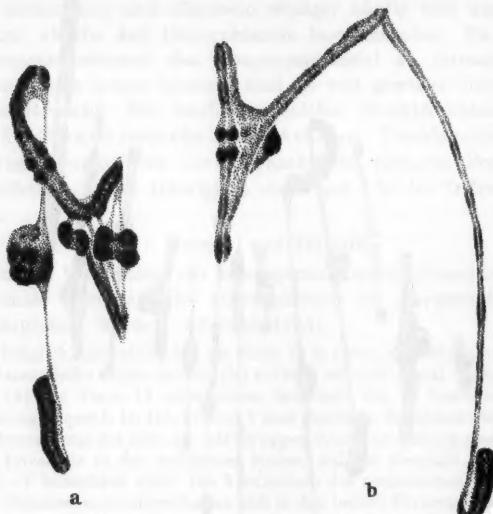


Abb. 2 a u. b. Zwei Quadrivalente desselben Individuums wie Abb. 1, mit zusätzlichem Chiasma im proximalen Segment eines Translokationsarmes. a subterminale, b terminale Chiasamabbindung zwischen den beiden Teilbivalenten. Vgl. Abb. 3f. 3800 $\times$ .

im proximal von der Bruchstelle liegenden Abschnitt dieses ungepaarten Translokationsarmes (Abb. 3f). Wird zunächst von spezifischen Paarungseigenschaften (Chiasmalokalisation) abgesehen, so folgt aus Zahl und Verteilung der Chiasmen, daß zumindest eines der translozierten Segmente nur wenig ausgedehnt sein kann. Die Größe dieses Segmentes läßt sich aus den cytologischen Bildern abschätzen. Das proximale Chiasma im betreffenden Translokationsarm kann nur so weit terminalisiert werden, als die Homologie der entsprechenden Chromosomenregionen sich erstreckt, d. h. bis zur Austauschstelle (Abb. 3f). Die daran anschließenden freien Chromatidenenden repräsentieren so dann das eine der beiden Translokationssegmente. Aus Abb. 2 ist dessen geringe Ausdehnung ersichtlich, was seinen Paarungsausfall mit

dem entsprechenden Segment im ungeänderten Chromosom hinreichend erklärt. — Auf analoge Weise kann durch relativ proximale Lage der zweiten Bruchstelle (ungleich große Translokationssegmente) die Wahrscheinlichkeit eines proximalen Chiasmas im zweiten Chromosomenpaar herabgesetzt werden.

Absolute und relative Länge der Translokationssegmente können die resultierende Konfiguration lediglich mitbestimmen. Eine Bildung von Viererringen nach Art der Abb. 3e wurde in zwei für verschiedene Translokationen heterozygoten Individuen beobachtet. Die Konfigurationen des einen zeigen bei Kettenbildung eine stark akrozentrische Gestalt der Chromosomen des einen beteiligten Paares (Abb. 4a). Deren kleine Chromosomenarme bilden in zahlreichen Fällen ebenfalls ein Chiasma, welches zumeist extrem terminalisiert und prometaphatisch stark gestreckt wird (Abbildung 4b—d). Die Chiasmahäufigkeit ist somit nicht allein von der Länge eines Chromosomenarmes abhängig; bei den Konfigurationsformen durch Translokation spielen deshalb auch spezifische Eigenschaften der betroffenen Chromosomen eine Rolle.

Die Konfigurationen der 48 analysierbaren Prometaphasen des Heterozygoten von Abb. 4 sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Ringe und Ketten werden mit ungefähr gleicher Häufigkeit gebildet; Ketten entstehen wieder durch Ausfall eines Chiasmas, wovon jedoch auch die langen Chromosomenarme betroffen werden können. Weit seltener fallen zwei Chiasmen aus; dadurch werden entweder zwei freie Bivalente oder ein Trivalent und ein Univalent gebildet. Proximale Chiasmen waren in keinem Fall anzutreffen.

Bei Ketten- und Ringbildung bestehen verschiedene Orientierungsmöglichkeiten der 4 Centromeren: 1. alternierend (Disjunction), 2. Ko-Orientierung zweier benachbarter Centromeren (Non-Disjunction), und 3. zahlenmäßig ungleiche Aufteilung der Chromosomen im Verhältnis

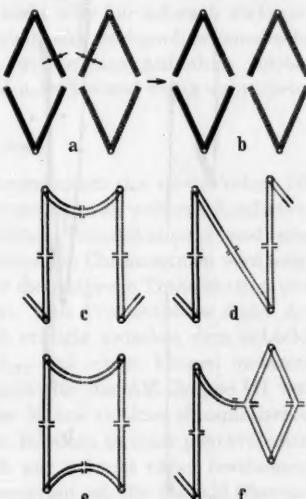


Abb. 3 a—f. Schema der reziproken Translokation zwischen zwei metazentrischen Chromosomen a Ausgangschromosomen und Lage der Bruchstellen, b heterozygote Kombination nach Austausch, c—f einige Möglichkeiten der resultierenden Meiosekonfigurationen (Chromatidendarstellung) mit verschiedener Zahl und Lage der Chiasmen und verschiedener Metaphaseorientierung.

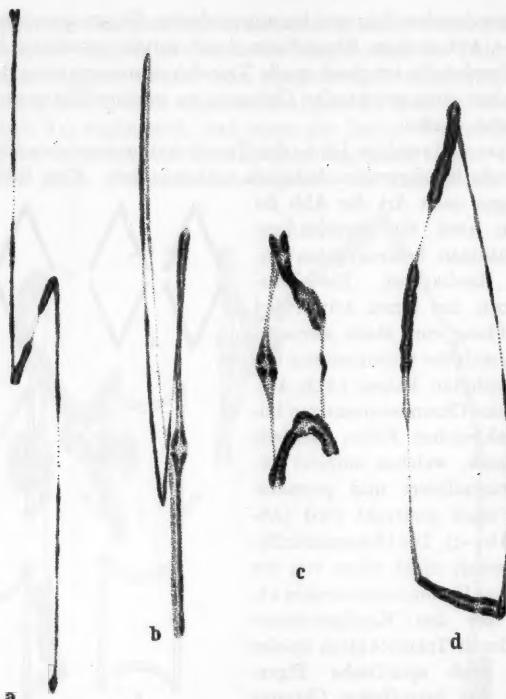


Abb. 4 a—d. Quadrivalente aus verschiedenen translokations-heterozygoten Prometaphasen desselben Tieres. — a Quadrivalente Kette durch Paarungsausfall eines Chromosomenarmes, in Disjunction. b, c, d quadrivalente Ringe; b in Disjunction, c, d in Non-Disjunction. Die meisten Chiasmen sind stark terminal. a  $2000 \times$ ; b, c, d  $3300 \times$ .

Tabelle 1. Häufigkeit der verschiedenen Konfigurationsformen in translokations-heterozygoten Prometaphasen des Individuums von Abb. 4.

Konfiguration	Zahl der Fälle	%
Ring { Disjunction . . . . .	7	19
Non-Disjunction . . . . .	12	
Kette { Disjunction . . . . .	17	23
Non-Disjunction . . . . .	6	
2 Bivalente . . . . .	5	10,4
Trivalent + Univalent . . . . .	1	2,1
Total	48	

3:1 (anstatt 2:2) bei Ko-Orientierung von 3 Centromeren (ungleiches Non-Disjunction). Aus den Werten der Tabelle geht hervor, daß das Verhältnis Disjunction:Non-Disjunction bei den Viererkonfigurationen (24:18) nur unwesentlich vom Zufallswert 21:21 abweicht. Bei den heterozygoten Organismen vom *Oenothera*-Typ können bekanntlich chromosomenmechanische Bedingungen für die relative Seltenheit von Non-Disjunction verantwortlich gemacht werden. Im vorliegenden Fall bei *Purpura* sind solche Bedingungen nicht oder nur schwach wirksam; mit der reziproken Translokation ist deshalb eine hochgradige gametische oder zygotische Sterilität verknüpft, welche eine Aufnahme solcher struktureller Änderungen in den normalen Artbestand wenig wahrscheinlich macht.

## 2. Pentavalente.

Die Teilnahme von A- oder M-Chromosomen des numerischen Dimorphismus an reziproken Translokationen kann zu weiteren Konfigurationsformen führen. Die Analyse solcher Translokationen und eine partielle Bestimmung der daran teilnehmenden Chromosomen wird möglich bei gleichzeitiger Heterozygotie für die reziproke Translokation und die beteiligten A- und M-Chromosomen. Eine Prometaphase dieser Art zeigt Abb. 5a. Der Segmentaustausch erfolgte zwischen dem subtelozentrischen Chromosom des Paares  $A_{III}$  und einem kleinen metazentrischen Element (Abb. 6). Heterozygotie für die AM-Gruppe III und die reziproke Translokation führt in der Meiose zu einer chiasmatischen Verbindung des Trivalents III mit dem Bivalent zu einer pentavalenten Konfiguration. Das Bivalent läßt sich nur indirekt näher bestimmen. Da das Individuum der Abb. 5a heterozygot ist für die AM-Chromosomengruppen I, III und V, verbleiben an M-Chromosomen lediglich  $M_{II}$  und  $M_{IV}$  in homozygotem Zustand. Beide sind bedeutend größer als das in der pentavalenten Figur sichtbare Chromosomenpaar. Das an der reziproken Translokation beteiligte kleine metazentrische Chromosom steht somit außerhalb des numerischen Dimorphismus.

Ein zweites Individuum, das dieselbe pentavalente Figur in einer anderen chromosomal Konstitution enthielt, wurde in einer benachbarten Population aufgefunden. Auch in diesem Fall ist das Trivalent III mitbeteiligt (Abb. 5b, mit Ko-Orientierung von  $M_{III}$  und dem anschließenden Translokationschromosom); es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach um dieselbe Translokation in verschiedenen Individuen.

Sämtliche Chiasmen des Pentavalents sind terminal oder schwach subterminal. Das durch den großen freien Arm gekennzeichnete  $A_{III}$ -Chromosom verbindet ein immer extrem ausgezogenes terminales Chiasma mit dem  $M_{III}$ -Element, wie das auch für das normale Trivalent III charakteristisch ist. Das (heterozygote) Bivalent ist zwischen

dem zweiten (strukturell veränderten) A<sub>III</sub>-Chromosom, das vom normalen A<sub>III</sub>-Element des Trivalents III nicht unterscheidbar ist, und dem entsprechenden Arm des M-Chromosoms eingeschaltet. Proximale

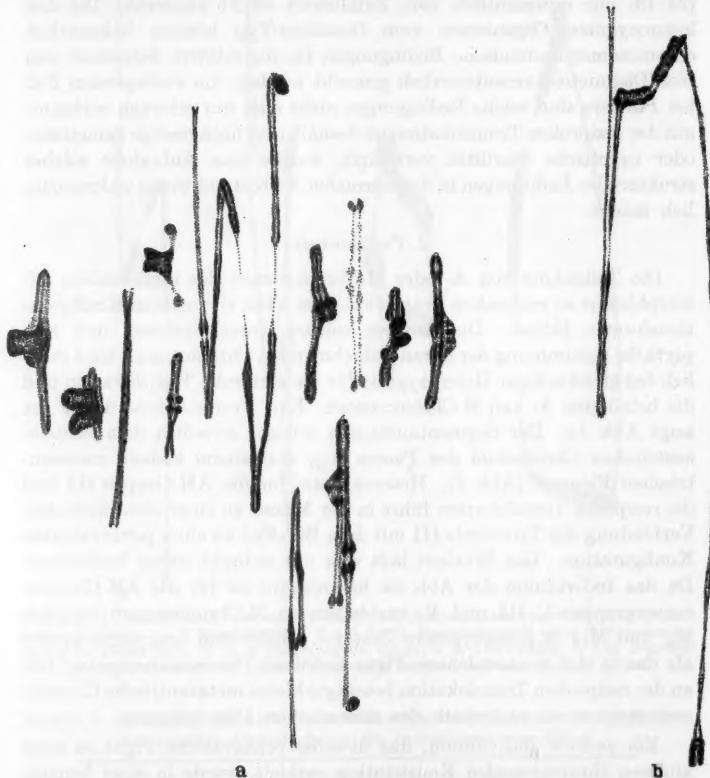


Abb. 5a u. b. Pentavalentbildung durch reziproke Translokation zwischen einem A<sub>III</sub>-Chromosom und einem bivalentbildenden Element. a Mittlere Prometaphase der Konstitution 9(2) + 2(3) + 1(5); Ausgangskonstitution: 10(2) + 3(3). Pentavalent: oben mitte, mit alternierender Orientierung der 5 Centromeren (vgl. Abb. 6); Trivalente: I (unten rechts), V (unten links). b Dasselbe Pentavalent aus der frühen Prometaphase eines anderen Individuums. 2400  $\times$ .

Chiasmen in den Translokationschromosomen wurden in keinem Fall beobachtet; für das strukturell veränderte A<sub>III</sub>-Chromosom sind solche Chiasmen nicht zu erwarten, da sich aus der Struktur des normalen Trivalents III eine distale Chiasmalokalisation beider A<sub>III</sub>-Chromo-

somen im heterozygoten Zustand ergibt. In einigen Fällen (2 von 18 Prometaphasen des Individuums der Abb. 5a) fällt das Chiasma im strukturell unveränderten Arm des kleinen metazentrischen Chromosoms aus; es entsteht dadurch ein Trivalent mit großen freien Armen an beiden A-Chromosomen neben einem stark ungleichen asymmetrischen Bivalent, wie es auf Grund des Translokationsschemas zu erwarten ist. Die Komplexität der Konfiguration führt naturgemäß zu häufigem Non-Disjunction (um 50%).

### 3. Zum Fusions-Translokationsvorgang.

Der Fusions-Translokationsprozeß, der zur Entstehung ROBERTSONScher Beziehungen führen soll, unterscheidet sich von den bisher dargestellten Fällen in zwei Punkten: 1. beide Ausgangschromosomen sind akrozentrisch; 2. beide Bruchstellen liegen in nächster Nachbarschaft des Centromers, jedoch im kleinen Arm des einen Chromosoms und im großen des zweiten. Unter diesen Bedingungen entstehen nach Austausch zwei metazentrische Elemente von stark verschiedener Größe, wobei das kleinere voraussetzungsgemäß nur inertes (centromerenbenachbartes) heterochromatisches Material hauptsächlich der kleinen Chromosomenarme enthalten darf und deshalb ohne Vitalitätsverlust für den Organismus verlorengehen darf. Der Vorgang repräsentiert somit den Übergang  $A + A \rightarrow M$ .

Unter den 11 translokations-heterozygoten Individuen wurde ein Fall aufgefunden, der dem Fusions-Translokationsmodell sehr nahe kommt und seine unmittelbaren cytologischen Konsequenzen zu demonstrieren vermag. Die beiden beteiligten Chromosomenpaare bestehen aus ursprünglich akrozentrischen und etwas verschiedenen großen Elementen (Abb. 7a). Die Lage der Bruchstellen geht aus den Konfigurationsformen hervor; die eine liegt distal im kleinen Arm des großen ersten Elementes, die andere in der proximalen Hälfte im Hauptarm des kleineren zweiten Chromosoms. Die beiden ausgetauschten Chromosomenstücke sind damit von sehr verschiedener Größe. Nach dem Segmentaustausch (Abb. 7b) entstehen deshalb ein großes metazentrisches Chromosom und ein kleines von submetazentrischer Gestalt.



Abb. 6 a u. b. Schema der Pentavalentenbildung durch reziproke Translokation; Prometaphase-Konfigurationen mit terminalen Chiasmen. a Ausgangschromosomen (Trivalent III + Bivalent) und Lage der Bruchstellen; b Aufbau des Pentavalents (in Disjunction) nach Austausch und heterozygoter Kombination.

Die erwähnte Bruchverteilung führt bei heterozygoter Kombination in einigen Fällen zu Quadrivalenten nach Art der Abb. 8, die eindeutig zu interpretieren sind (Abb. 7c, d). Die Quadrivalenten setzen 3 bis 4 Chiasmen voraus. Ein erstes Chiasma (1) wird im strukturell unveränderten großen Arm des ersten Chromosoms gebildet, ein zweites (2) zwischen dem translozierten großen Arm und seinem Ausgangschromosom im zweiten Element; Chiasma 2 stellt die chiasmatische Verbindung zwischen den beiden Chromosomenpaaren her (in Abb. 8 in allen drei Fällen terminalisiert und nicht genau lokalisierbar). Das dritte Chiasma (3) erfolgt proximal von der Austauschstelle im großen Arm des zweiten Chromosoms. Es ist anzunehmen, daß dieses dritte Chiasma so weit terminalisiert werden kann, als die Homologie der Chromosomenregion reicht; die dabei sichtbar werdenden freien Chromatidenenden repräsentieren somit das kleinere Translokationssegment, das ursprünglich dem größeren Chromosom entstammt. Ein fakultatives viertes Chiasma (4) entspricht dem Chiasma 3 und liegt proximal im strukturell ungleichen kleineren Arm des ersten Elementes. Die gleichzeitige Bildung der Chiasmen 1 und 4 bedingt den Umbau des ersten

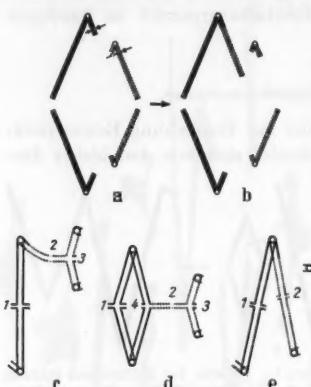


Abb. 7 a—e. Schema der reziproken Translokation zwischen zwei akrozentrischen Chromosomen (wie Abb. 8 und 9), a Ausgangschromosom und Lage der Bruchstellen, b heterozygote Kombination nach Austausch, c, d, e resultierende Meioskonfigurationen (Chromatidendarstellung); c, d Quadrivalentbildung durch proximales Chiasma im kleinen Chromosomenpaar (wie Abb. 8); e Trivalent + Univalent durch Ausfall dieses proximalen Chiasmas (wie Abb. 9).

Chromosomenpaars zu einem ringförmigen Teilbivalent. — Die dargestellten Quadrivalenten entsprechen in ihrem Aufbau weitgehend jenen von Abb. 2 durch die Bildung der proximalen Chiasmen (vgl. Abb. 3f mit 7c). Im Unterschied zu den früheren Fällen entstehen jedoch weder Ringe noch Ketten; Voraussetzung dazu wäre Chiasmbildung im kleinen Arm des zweiten Chromosomenpaars und im kleinen Austauschsegment. Die aus Abb. 8 ersichtliche geringe Größe dieser beiden distalen Stücke macht den Paarungsausfall verständlich.

Quadrivalente werden im betreffenden Individuum lediglich in etwa 23% der Prometaphasen gebildet (Tabelle 2). Weitere 5% zeigen zwei Bivalente dadurch, daß das Chiasma 2 ausfällt. In der Mehrzahl der Fälle (etwa 73%) ist hingegen die Konfiguration der Abb. 9 verwirklicht: Bildung eines Trivalents und eines freien Univalents. Sie kommt durch

den Ausfall des proximalen Chiasma 3 zustande (Abb. 7e); infolge der geringen Ausdehnung des proximal von der Bruchstelle liegenden Segmentes besteht hier eine nur geringe Wahrscheinlichkeit für Chiasmabildung.

Das resultierende Trivalent zeigt Abb. 9. Es entspricht in seiner Gestalt den auf Grund des numerischen Dimorphismus gebildeten; in

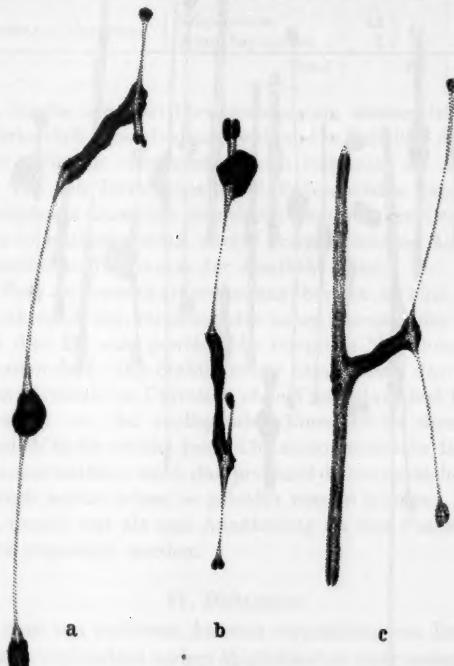


Abb. 8 a—c. Quadrivalente aus Prometaphasen desselben Individuums wie Abb. 9, mit Chiasmabildung im proximalen Segment des kleinen Translokationschromosoms. Das kleinere Chromosomenpaar liegt jeweils rechts. In a, b monochiasmatisches großes Chromosomenpaar (wie Abb. 7c); in c dasselbe mit Chiasmen in beiden Chromosomenarmen (wie Abb. 7d).  
3300 ×.

der Mehrzahl der Fälle (43 von 45 Prometaphasen) sind die drei Centromeren alternierend orientiert (Disjunction). Selten erfolgt zusätzlich die Bildung des proximalen Chiasma 4.

Das Univalent verhält sich in seiner Orientierung unabhängig vom Trivalent und wandert deshalb zufallsgemäß entweder zum Pol des neu entstandenen großen metazentrischen Chromosoms (Disjunction)

oder mit den beiden ursprünglichen akrozentrischen Elementen (Non-Disjunction). Wenn nach der Voraussetzung des Fusions-Translokationsmodells das Univalent nur inertes heterochromatisches Material enthält, führen im Gegensatz zu gewöhnliche reziproke Translokationen beide

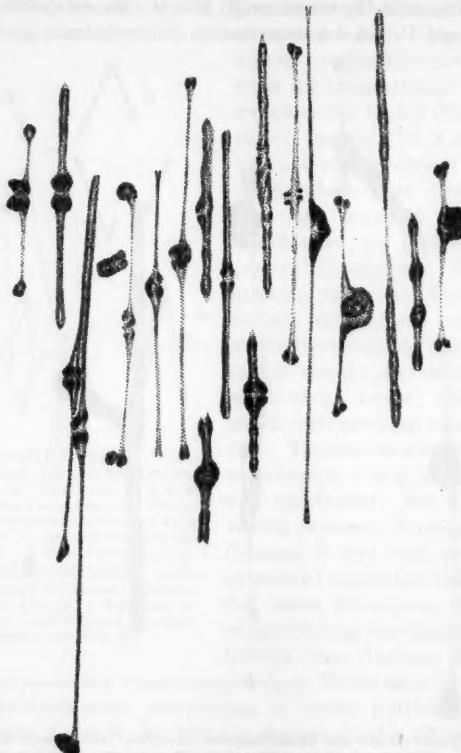


Abb. 9. Mittlere Prometaphase der Konstitution  $16(2) + 1(3) + 1(1)$  durch Heterozygotie für eine reziproke Translokation und Paarungsausfall eines Translokationschromosoms; Ausgangskonstitution:  $18(2)$ . Neugebildetes Trivalent: dritte Figur von links, metazentrisches Chromosom nach oben orientiert; Univalent: rechts daneben.  $2400 \times$ .

möglichen Orientierungen zu balancierten Gametenkernen. Als sterilitätsverursachender Prozeß verbleibt sodann einzig Non-Disjunction des Trivalents.

Der Vergleich der beiden Fälle der Tabellen 1 und 2 zeigt deutlich die Bedeutung der Ausgangssituation (Chromosomenform, Bruchverteilung) für die resultierenden Konfigurationen. Die Translokation von

Tabelle 2. Häufigkeit der verschiedenen Konfigurationsformen in translokations-heterozygoten Prometaphasen des Individuums von Abb. 8/9.

Konfiguration	Zahl der Fälle	%
Quadrivalent . . . . .	14	22,6
2 Bivalente . . . . .	3	4,8
Trivalent + Univalent { Disjunction . . . . .	43	72,6
Non-Disjunction . . . . .	2	
Total	62	

Tabelle 1, welche von zwei Chromosomen ein metazentrisches betrifft, bildet mehrheitlich Quadrivalente, während in Tabelle 2 die Trivalenten überwiegen. Für die erstere ergibt sich insgesamt um 50% Non-Disjunction. Von den Trivalenten des 2. Falles werden dagegen nur 2 in 45 Prometaphasen unrichtig orientiert (wenn von der Orientierung des Univalents abgesehen werden darf). Trivalentbildung kommt deshalb einer wesentlichen Reduktion der Sterilität gleich.

Beim Fusions-Translokationsvorgang besteht so eine weit größere Wahrscheinlichkeit der Fixierung des neuen Chromosoms in der Population, als dies für eine gewöhnliche reziproke Translokation vorausgesetzt werden darf. Die Stabilisierung hängt einzig davon ab, ob der Verlust des Materials im Univalent ohne Vitalitätsverlust für den Organismus tragbar ist. Im vorliegenden Einzelfall ist diese Bedingung wahrscheinlich nicht erfüllt; beide Chromosomenbrüche fanden so weit vom Centromer entfernt statt, daß proximal davon zusätzliche Chiasmen — wenn auch relativ selten — gebildet werden können. Er kann deshalb noch immer erst als eine Annäherung an den Fusions-Translokationsprozeß angesehen werden.

#### IV. Diskussion.

Neben dem von mehreren Autoren vorgeschlagenen Translokationsvorgang sind verschiedene andere Möglichkeiten einer mutativen Grundlage der ROBERTSONSchen Chromosomenbeziehung diskutiert worden. Sie postulieren entweder die Existenz von telozentrischen Chromosomen oder aber von Doppelcentromeren in metazentrischen Chromosomen.

Zur Existenzfähigkeit von telozentrischen Chromosomen ist bei *Purpura* bereits ein Einzelfall dargestellt worden (STAIGER 1954), der zwei durch Centromerenbruch entstandene telozentrische Chromosomen aufweist. Das abweichende cytologische Verhalten des bei heterozygoter Kombination entstehenden Trivalents lässt vermuten, daß eines dieser Elemente ein nicht voll funktionsfähiges Centromer besitzt. Beim Mais wurde von RHOADES (1940) gezeigt, daß ein telozentrisches Chromosom unstabil ist, da es zur Bildung eines Isochromosoms neigt. Gesicherte

positive Befunde lassen sich somit für die Hypothese der telozentrischen Chromosomen nicht anführen.

Die weiterhin geäußerte Ansicht des Doppelbaues der Centromeren von metazentrischen Chromosomen der Orthopteren (HELWIG 1941) bedarf einer Nachprüfung; bei anderen tierischen Arten sind keine analogen Befunde erhoben worden. Für eine Verallgemeinerung dieses Bauprinzips der metazentrischen Chromosomen fehlt jedenfalls eine sachliche Begründung. Mit der Annahme eines Doppelbaues der Centromeren der M-Chromosomen von *Purpurea* sind die Beobachtungen über die asymmetrische Gleichgewichtslage der Trivalenten in der Meiose-spindel (STAIGER 1954) nicht vereinbar; sie zeigen, daß die auf die Centromeren der beiden A-Chromosomen wirkenden Kräfte insgesamt größer sind als die am M-Chromosom angreifenden, was bei einem Doppelcentromer im Sinne von HELWIG nicht zu erwarten wäre. Wie der Vergleich der Abb. 5a und 9 ergibt, verhält sich das neugebildete Trivalent (mit sicher einfachem Centromer im metazentrischen Chromosom) auf dieselbe Weise wie die auf den numerischen Dimorphismus zurückzuführenden Konfigurationen. Auch das übereinstimmende Verhalten von Trivalenten in der Meiose von Triploiden (ÖSTERGREN 1945) spricht für eine Gleichwertigkeit der Centromeren von A- und M-Chromosomen bei *Purpurea* und damit gegen einen Doppelbau der Centromeren.

Dem Fusions-Translokationsvorgang stehen demgegenüber keine chromosomenmechanischen Schwierigkeiten im Wege. Dagegen ist seine Realität mit dem Hinweis auf die außerordentliche Seltenheit von reziproken Translokationen in Wildpopulationen angezweifelt worden (MATHESY 1951). Unter allen untersuchten *Drosophila*-Arten sind reziproke Translokationen in lediglich 2 Fällen festgestellt worden (*D. ananassae* und *D. prosaltans*; Übersicht in PATTERSON und STONE 1952). Auch bei Orthopteren, welche wie keine zweite Gruppe in großen Arten- und Individuenzahlen cytologisch untersucht worden sind, konnten translokations-heterozygote Individuen nur sporadisch festgestellt werden; WHITE (1954) erwähnt 4 Fälle, wovon nur einer mit Sicherheit als in der betreffenden Population fixiert angesehen werden darf. Die zusätzlichen Bedingungen über Chromosomenform und Bruchverteilung schränken die Realisationswahrscheinlichkeit des Fusionsvorgangs nochmals stark ein. Damit steht die Häufigkeit von zentrischen Fusionen in systematischen Einheiten verschiedenster Ordnung in einem auffälligen Gegensatz, was zunächst an der Realität des Fusions-Translokationsprozesses zweifeln läßt.

Möglicherweise entspringt dieser Widerspruch dem Gegensatz zwischen der Häufigkeit von translokations-heterozygoten Individuen in einer Population und der Häufigkeit des entsprechenden Mutationsvorganges als spontanem Prozeß bei der individuellen Gametogenese;

die erstere läßt keinen direkten Schluß zu auf die Translokationsfrequenz. Von ROTHFELS (1950) ist beim Acridier *Chloea litis conspersa* die Häufigkeit von reziproken Translokationen in den Spermatocyten infolge spontaner Chromosomenmutation auf den hohen Wert von 1% der Zellen geschätzt worden. Dazu steht die Seltenheit von translokations-heterozygoten Individuen bei Acridiern in auffälligem Kontrast. Die Semisterilität der Translokations-Heterozygoten führt normalerweise zu einer Elimination der Translokation nach wenigen Generationen; im gleichen Sinne wirkt sie aber bereits bei der Segregation von spontanen reziproken Translokationen der Keimbahn als ein Filter, das Strukturänderungen mit negativem Selektionseffekt zurückbehält. So ist die Seltenheit von translokations-heterozygoten Individuen verständlich; die Rate des entsprechenden Mutationsvorganges kann jedoch wesentlich höher liegen. Damit steigt auch die Wahrscheinlichkeit der Realisation einer Fusions-Translokation.

Trivalente Konfigurationen, welche dem Translokationsmodell der zentralischen Fusion entsprechen, bedingen einen geringeren Fertilitätsverlust als die Quadrivalente der üblichen Translokationen, da nur 3 Centromeren orientiert werden müssen. Bei der Untersuchung der Eifertilität von fusionsheterozygoten Hybriden der beiden Unterarten *Drosophila americana-americana* und *D. americana-texana* fand STONE (1949) mit den homozygoten Kontrollen übereinstimmende Fertilitätswerte. Im gleichen Sinne sprechen cytologische Befunde an Geschlechts-trivalenten (HUGHES-SCHRADER 1943). Der Unterschied der beiden Translokationstypen in bezug auf Fertilitätsverlust ergibt sich ferner aus den dargestellten Befunden an *Purpura*.

Die reduzierte Sterilität entspricht einer wesentlichen Erhöhung der „Fixationswahrscheinlichkeit“ (WRIGHT 1941) für jene Translokationen, welche nach dem Fusions-Translokationsmodell verlaufen. Es ist damit wohl vorstellbar, daß solche Translokationen als einzige das „Sterilitätsfilter“, wie es das genetische System einer Art darstellt, passieren und ein genetisches Variationssystem aufbauen können.

Die außergewöhnliche Häufigkeit von reziproken Translokationen bei *Purpura* entkräftet wohl für diesen einen Fall das Argument des seltenen Ereignisses zur Kritik am Fusions-Translokationsvorgang. Die 11 aufgefundenen Translokations-Heterozygoten repräsentieren 10 verschiedene Translokationen, wobei naturgemäß nur größere Segmente betreffende Fälle mit Paarungseffekt in der Meiose festgestellt werden können. Das entspricht einer Häufigkeit von rund 1% der Individuen.

Bedeutung und Vorgesichte der Translokationen sind in den meisten Fällen nicht sicher bekannt. Da (abgesehen von Bivalentbildung durch Paarungsausfall) alle oder die Mehrzahl der Prometaphasen ein Quadrivalent aufweisen, müssen entweder die Individuen als

Ganze heterozygot sein oder zumindest die Translokation in einem sehr frühen Keimbahnstadium sich zugetragen haben. Das letztere darf für die beiden Tiere mit Pentavalenten ausgeschlossen werden; diese repräsentieren zugleich die einzige Translokation, die in mehreren Individuen vorzukommen scheint. Für die Beurteilung der Translokationshäufigkeit bei *Purpura*, ohne Rücksicht auf ihr Schicksal in der Population, ist jedoch die Feststellung des Vorkommens heterozygoter Gameten allein wesentlich.

Bei der hohen Translokationshäufigkeit ist es bemerkenswert, daß der intraspezifische Dimorphismus von *Purpura* keine quadrivalentbildenden Translokationen als chromosomal Unterschiede der numerischen Formen 13 und 18 aufweist. Neben den AM-Differenzierungen kommen intrachromosomal strukturelle Ungleichheiten bei mindestens 3 der 8 außerhalb des numerischen Dimorphismus stehenden Chromosomen vor (STAIGER, unveröffentlicht); die Strukturvarianten sind wahrscheinlich den beiden Formen zugeordnet und ergeben bei Heterozygotie asymmetrische heteromorphe Bivalente. Sie entsprechen jenen von zahlreichen Acridierarten (COLEMAN 1948, WHITE 1951), welche infolge der reduzierten Chiasmafrequenz (oder einer Chiasmalokalisation) bei Heterozygotie keinen Fertilitätsverlust mit sich bringen. Dasselbe trifft für die heteromorphen Bivalente von *Purpura* zu. Hingegen fehlen Translokationen im normalen Variationssystem der Art. Das ökologische Verbreitungssystem von *Purpura* macht es verständlich, daß reziproke Translokationen als chromosomal strukturelle Unterschiede zwischen den beiden Formen sich nicht stabilisieren könnten; Translokationen müßten — infolge ihrer Semisterilität bei Heterozygotie — die Bildung von heterogenen Populationen weitgehend verunmöglichen. Bei den bestehenden adaptiven Merkmalen der beiden Extremformen würde daraus eine starke Einschränkung des besiedelten Gebietes resultieren. Dagegen werden sich Strukturänderungen ohne wesentlichen Fertilitätsverlust, welche adaptive Genkomplexe von Rekombination ausschließen, durchsetzen können. Den cytologischen Bildern ist zu entnehmen, daß das sowohl für die AM-Chromosomengruppen wie auch für die intrachromosomal verschiedenen Elemente von *Purpura* zutrifft. Bei *Purpura* mit den heterogenen Populationen bildet deshalb das aktuelle Verbreitungssystem einen wesentlichen Faktor des bereits erwähnten genetischen Systems, das die Auswahl der in den Arzbestand eingehenden spontanen Chromosomenmutationen bestimmt.

#### Zusammenfassung.

Bei der Untersuchung verschiedener Populationen des marin-litoralen Prosobranchiers *Purpura lapillus* in der Umgebung von Roscoff (Bretagne, Frankreich) erwiesen sich rund 1% der Tiere als heterozygot

für reziproke Translokationen verschiedener Art. Die Heterozygoten kennzeichnet die Bildung von quadrivalenten Chromosomenkonfigurationen in der Prometaphase der weiblichen Meiose. Diese cytologischen Variationen stehen außerhalb des für die Art *Purpura lapillus* charakteristischen normalen Variationssystems, das sich auf der Grundlage der beiden numerischen Formen mit den Haploidzahlen 13 und 18 aufbaut.

Eine der Translokationen zeichnet sich aus durch mehrheitliche Bildung eines Trivalents und eines Univalents an Stelle eines Quadrivalents in der Meiose des Heterozygoten. Sie kommt dadurch dem Translokationsmodell der zentrischen Fusion nahe, welche zur Umbildung zweier akrozentrischer Chromosomen in ein metazentrisches Element führt (ROBERTSONSche Beziehung). In diesem Zusammenhang wird die Bedeutung von Translokationen und zentrischen Fusionen bei der Bildung der beiden numerischen Formen von *Purpura lapillus* erörtert.

#### Literatur.

- COLEMAN, L. C.: The cytology of some western species of *Trimerotropis* (*Acrididae*). *Genetics* **33**, 519—528 (1948). — HELWIG, E. R.: Multiple chromosomes in *Philocleon anomalous* (*Orthoptera: Acrididae*). *J. of Morph.* **69**, 317—327 (1941). — HUGHES-SCHRADER, S.: Polarization, kinetochore movements, and bivalent structure in the meiosis of male mantids. *Biol. Bull.* **85**, 265—300 (1943). — MATTHEY, R.: Les chromosomes des Vertébrés. Lausanne 1949. — The chromosomes of the Vertebrates. *Adv. Genet.* **4**, 159—180 (1951). — ÖSTERGREN, G.: Equilibrium of trivalents and the mechanism of chromosome movements. *Hereditas* **31**, 498 (1945). — PATTERSON, J. T., and W. S. STONE: Evolution in the genus *Drosophila*. New York 1952. — RHOADES, M. M.: Studies of a telocentric chromosome in Maize with reference to the stability of its centromere. *Genetics* **25**, 483—520 (1940). — ROBERTSON, W. R. B.: Chromosome studies. I. Taxonomic relationships shown in the chromosomes of *Tettigidae* and *Acrididae*. V-shaped chromosomes and their significance in *Acrididae*, *Locustidae* and *Gryllidae*: chromosomes and variation. *J. of Morph.* **27**, 179—331 (1916). — ROTHFELS, K. H.: Spontaneous and induced chromosome aberrations in the grasshopper *Chloeaaltis conspersa*. (Abstract, Genetics Society of America.) *Genetics* **35**, 687 (1950). — STAIGER, H.: Der Chromosomendimorphismus beim Prosobranchier *Purpura lapillus* in Beziehung zur Ökologie der Art. *Chromosoma* **6**, 419—478 (1954). — STONE, W. S.: The survival of chromosomal variation in evolution. *Univ. Texas Publ.* **1949**, No 4920, 18—21. — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. Cambridge 1945 (1. Aufl.), 1954 (2. Aufl.). — Structural heterozygosity in natural populations of the grasshopper *Trimerotropis sparsa*. *Evolution* **5**, 376—394 (1951). — WRIGHT, S.: On the probability of fixation of reciprocal translocations. *Amer. Naturalist* **75**, 513—522 (1941).

Dr. HANSRUDOLF STAIGER, Basel (Schweiz), Augsterweg 17.

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. H. BAUER, Wilhelmshaven,  
und dem Zoologischen Institut der Universität Marburg.

## CYTOTOLOGISCHE ANALYSE EINES CAMPTOCHIRONOMUS- ARTBASTARDS.

### I. KREUZUNGSERGEBNISSE UND DIE EVOLUTION DES KARYOTYPUS.

Von

WOLFGANG BEERMANN.

Mit 38 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Januar 1955.)

#### Inhalt.

	Seite
A. Einleitung . . . . .	198
B. Methodik . . . . .	200
C. Ergebnisse . . . . .	200
I. Biologie und Morphologie der beiden Arten und ihres Bastards . . . . .	200
1. Vorkommen und Verbreitung . . . . .	200
2. Morphologie und Entwicklung der beiden reinen Arten . . . . .	201
3. Kreuzungsverhalten der beiden Arten und Ergebnisse der Bastardierung . . . . .	204
4. Die Bastarde . . . . .	206
II. Der Chromosomenbestand der beiden Arten und ihres Bastards . . . . .	207
1. Allgemeines . . . . .	207
2. Die einzelnen Chromosome . . . . .	209
a) Chromosom 1L . . . . .	209
b) Chromosom 1R . . . . .	213
c) Chromosom 2L . . . . .	219
d) Chromosom 2R . . . . .	223
e) Chromosom 3L . . . . .	225
f) Chromosom 3R . . . . .	226
g) Chromosom 4 . . . . .	229
3. Strukturmodifikationen und Nukleolen . . . . .	234
a) Strukturmodifikationen . . . . .	234
b) Nukleolen . . . . .	237
D. Diskussion . . . . .	239
1. Die Bastardierungsergebnisse . . . . .	239
2. Die Evolution der Chromosomenstruktur in der Differenzierung der beiden Arten . . . . .	242
3. Zur Populationsgenetik der Inversionen von <i>C. tentans</i> . . . . .	249
4. Cytologisch erkennbare unilokale Mutationen in der intra- und transspezifischen Evolution . . . . .	253
Zusammenfassung . . . . .	255
Literatur . . . . .	257

#### A. Einleitung.

Die formenreiche Dipterenfamilie der Chironomiden (Tendipediden) bietet wie kaum eine zweite Gruppe der Nematoceren ideale Voraus-

setzungen für das Studium der intra- und transspezifischen Evolution des Karyotypus (BAUER 1936). Fast alle bisher geprüften Chironomidenarten, vor allem in den Unterfamilien der Chironominen und Orthocladiinae, zeichnen sich durch den Besitz besonders großer und übersichtlich strukturierter larvaler Speichelrüssenchromosomen aus; viele — wahrscheinlich die meisten — Arten bilden cytologisch polymorphe Populationen mit einem großen Anteil strukturell heterozygoter Individuen; schließlich läßt sich Material für populationsgenetische Untersuchungen infolge der aquatischen, streng biotop-spezifischen Lebensweise der meisten Larvenformen (vgl. THIENEMANN 1954) technisch einfach und in statistisch ausreichender Menge beschaffen.

Cytologisch und cytogenetisch weichen die Chironomiden in wesentlichen Zügen von den höheren Dipteren, insbesondere der Gattung *Drosophila*, ab. Für die Beurteilung des natürlichen Inversionspolymorphismus ist es z. B. von Bedeutung, daß die Meiose bei den Chironomiden in beiden Geschlechtern normal, also unter Ausbildung von Chiasmen verläuft; nur in Ausnahmefällen (BAUER und BEERMANN 1952b) ist der abgeleitete Zustand — Ausfall des crossing-over im ♂ — verwirklicht. Wohl noch einschneidender ist der Unterschied im Geschlechtschromosomen-Mechanismus, der die Chironomiden gemeinsam mit einigen anderen Nematoceren von den übrigen Dipteren trennt: ♂♂ und ♀♀ besitzen exakt den gleichen diploiden Bestand an eu- und heterochromatischen Genomelementen, d. h. die genetisch als solche fungierenden Geschlechtschromosomen sind cytologisch nicht differenziert; X- und Y-Chromosom unterscheiden sich nicht voneinander. In Verbindung mit dem Inversionspolymorphismus ergeben sich hier neue Angriffsmöglichkeiten zur Frage der Evolution der Geschlechtschromosomen. Schließlich sei auf die Nukleolenverhältnisse, die Strukturmodifikationen (BEERMANN 1952a, b) und auf die Ausbildung des Heterochromatins verwiesen, die sich in mannigfaltiger Weise, von Gattung zu Gattung wechselnd, vom Standardtypus *Drosophila* unterscheiden.

Es sind bisher nur wenige populationsgenetisch-cytologische Untersuchungen an Chironomiden durchgeführt worden, und sie beschränken sich bis auf eine Ausnahme auf Arten der Gattung *Chironomus* (BAUER 1936, DUBININ und Mitarbeiter 1936, PHILIP 1942, HSU und LIU 1948, MAINX und Mitarbeiter 1953); Artbildungsfragen wurden überhaupt nur von BAUER (1936 und 1946) und von E. GOLDSCHMIDT (1942) berührt. Das entscheidende Hindernis für eine systematische Bearbeitung der Chironomiden ergibt sich aus dem Umstand, daß die überwiegende Anzahl der Arten nicht züchtbar, also Kreuzungsanalysen nicht zugänglich sind.

E. GOLDSCHMIDT (1942) hat mit Erfolg versucht, diese Schwierigkeit durch Massenzucht in großen Käfigen zu umgehen; ihre Bastardierungsergebnisse sind

im Zusammenhang mit den in dieser Arbeit besprochenen eigenen Artkreuzungsversuchen von besonderem Interesse (vgl. Diskussion).

Erst durch die Verwendung „stenogamer“, in Einzelpaarzuchten kopulierender und ablegender Chironomidenarten können die vom evolutionistischen oder populationsgenetischen Standpunkt interessierenden cytogenetischen Fragen planmäßig in Angriff genommen werden. Zu den wenigen bekannten züchtbaren Formen gehören die in dieser Arbeit näher untersuchten *Chironomus*-Arten.

*Chironomus (Camptochironomus) tentans* FABR. wurde bereits in anderem Zusammenhang cytologisch eingehend bearbeitet (BEERMANN 1952a); *C. pallidivittatus* MALLOCH steht dieser Art taxonomisch am nächsten und kommt oft vergesellschaftet mit ihr vor. Beide Arten bilden cytologisch extrem strukturpolymorphe Populationen. Abgesehen von den bekannten populationsgenetischen Fragestellungen war in erster Linie zu prüfen, welche und wie viele Genanordnungen („gene arrangements“) *C. tentans* und *C. pallidivittatus* gemeinsam besitzen, und ob sich die beiden Arten kreuzen lassen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung bilden den Inhalt der vorliegenden Arbeit; in weiteren Arbeiten soll über Befunde berichtet werden, die erst mit dem erfolgreichen Ausgang der Bastardierungsversuche möglich wurden, so über die Meiose der Bastarde, über Rückkreuzungs- und  $F_2$ -Ergebnisse, Triploidie und über die Geschlechtsbestimmung. Eine vorläufige Mitteilung über diese Arbeiten ist bereits erschienen (BEERMANN 1953).

### B. Methodik.

Zuchtverfahren und cytologische Präparationsmethoden sind für *C. tentans* bereits ausführlich dargestellt worden (BEERMANN 1952a); die gleiche Technik wurde auch bei *C. pallidivittatus* und den Bastarden angewandt. Einzelheiten über die Durchführung der Artkreuzungen werden in den Ergebnissen dargestellt.

### C. Ergebnisse.

#### I. Biologie und Morphologie der beiden Arten und ihres Bastards.

##### 1. Vorkommen und Verbreitung.

*Camptochironomus tentans* ist eine in Mittel- und Nordeuropa und in Nordamerika weit verbreitete und häufige Art. Seine Ökologie ist wie bei den anderen Chironomiden ganz auf die Lebensbedürfnisse der Larven abgestimmt, die sich vorzugsweise in mäßig eutrophem Schlamm am Grunde flacher, etwa 1–2 m tiefer stehender Gewässer aufhalten. An manchen Fundorten in Nordamerika tritt *C. tentans* in riesigen Massen als Charakterform größerer Seen auf (JUDAY 1922; ähnliche Angaben macht auch TOWNES 1945); in Europa dagegen kennt man die Art vor allem aus kleineren Gewässern, auch Tümpeln, Gartenbecken usw., deren Boden mit Laub oder anderen faulenden organischen Substanzen bedeckt ist. Starke Fäulnis bzw. Gärung werden nicht vertragen, wie die umfangreichen Zuchtexperimente SADLERS (1935) gezeigt haben, doch steht eine exakte Definition der ökologischen Bedürfnisse noch aus.

Das *tentans*-Material der Jahre 1950—1952 stammt aus dem sog. „Drecksee“ in Plön; er misst in seiner größten Ausdehnung rund 200 m und ist etwa 2 m tief. Der Boden ist mit einer etwa 0,5—1 m starken Schicht Faulschlamm (Abwasserzufluß) und Blaulalgen (*Gloeocapsa*) bedeckt. Neben *C. tentans* finden sich hier *C. plumosus* und *C. pallidivittatus* und einzelne Vertreter anderer Gattungen. Neues *tentans*-Material wurde jetzt (1954) aus einem etwa 3 m breiten und 2 m tiefen betonierten Bootskanal erhalten, der mit dem großen Plöner See kommuniziert und mit Fischereiabfällen verunreinigt ist. Im Schloßpark von Drottningholm bei Stockholm in Schweden fand sich *C. tentans* an einem kurzen Uferstreifen eines etwa 1 m tiefen Grabens, dessen Boden mit Erlenlaub bedeckt und mit Schafmist verunreinigt ist.

*Camplochironomus pallidivittatus* scheint bei weitem nicht so häufig zu sein, selbst unter Berücksichtigung des Umstandes, daß er auf Grund seiner Ähnlichkeit mit *C. tentans* sicher oft übersiehten worden ist. Manche Autoren haben *C. pallidivittatus* für eine Varietät von *C. tentans* gehalten, so MALLOCH (1915), von dem die erste Beschreibung und der Name stammen. MALLOCH fand einige *pallidivittatus*-Individuen an einem Standort in Illinois, wo hauptsächlich *tentans* in großen Mengen vorkam. In Oxford fand ACTON *C. pallidivittatus* ebenfalls nur als Begleitform von *C. tentans* (Individuenverhältnis 995:41). Im Plöner Drecksee (s. oben) gehörten etwa 5—10% der *Camplochironomus*-Larven der Art *pallidivittatus* an; in dem benachbarten „Klinkerteich“, einem sehr viel stärker verunreinigten, eutrophen Gewässer, hat BAUER 1935 noch überwiegend *pallidivittatus*-Larven (neben *tentans*-Larven) gefunden; 1950 enthielt ein eigener Fang etwa gleich viele Larven beider Spezies, aber nur in geringer Menge. Unter 20 Individuen befand sich eine cytologisch diagnostizierte Bastardlarve. *C. pallidivittatus* bildet auch in Tümpeln der Umgebung von Wilhelmshaven kleinere Populationen; vereinzelt tritt auch *C. tentans* auf. Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß *C. pallidivittatus* und *C. tentans* die gleichen oder mindestens einander sehr ähnlichen Biotope bewohnen; das läßt sich auch aus der Tatsache schließen, daß sich beide Arten in der gleichen Weise züchten lassen. Möglicherweise bevorzugt *C. pallidivittatus* kleinere Gewässer.

## 2. Morphologie und Entwicklung der beiden reinen Arten.

Die Imagines der *Camplochironomus*-Arten sind gegenüber Vertretern anderer, gleich großer Arten des Genus *Tendipes* MEIGEN (= *Chironomus* MEIGEN) meist schon an der Färbung von Kopf, Thorax und Beinen zu erkennen: sie wechselt von dunkelgrün bis gelblichbraun und kontrastiert, zuweilen sehr lebhaft, mit den braunen bis schwarzen Marken des Chitinskelets, vor allem den 3 Längsstreifen des Mesonotums. Unterscheidungsmerkmale der Untergattung ergeben sich aus der Struktur des Hypopygiums der ♂♂. Neben den großen, bereits bei flüchtiger Betrachtung auffallenden, gebogenen Endgliedern findet sich bei *Camplochironomus* ein Paar, das sog. „2. Paar“ (vgl. GOETHGEBUER 1937) ebenfalls außergewöhnlich großer Anhänge; das 1. Paar ist rudimentär. Zu den beiden Seiten der „Dorsallamelle“, eines unpaaren schwanzflossenartigen Chitinfortsatzes am Hypopygium, erkennt man (Abb. 1) als Merkmal der Untergattung die beiden „Seitenlappen“, deren Differenzierung in der Unterscheidung der Arten eine wichtige Rolle spielt.

Auch als Larven sind *C. tentans* und *C. pallidivittatus* verhältnismäßig einfach von anderen Arten zu trennen; sie werden in dem praktisch allein interessierenden 4. Larvenstadium mit Sicherheit an der braunen bis schwarzen Pigmentierung des Clypeus ihrer Kopfkapsel erkannt. Sonst unterscheiden sie sich nicht wesentlich von den übrigen roten *Chironomus*-Larven des sog. „plumosus-Typs“ (2 Paar

schlauchförmige Appendices ventrales am 8. Abdominalsegment, 1 Paar kurze Appendices laterales am 7. Abdominalsegment).

GOETHGEBER (1937) rechnet zur Untergattung *Camptochironomus* insgesamt 3 sichere Arten, von denen *C. flavofasciatus* KIEFF. nur aus Kleinasien bekannt ist. Die Imagines von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* unterscheiden sich nach GOETHGEBER folgendermaßen: Während *C. tentans* völlig schwarze oder schwarz-graue Mesonotalstreifen besitzt, variiert die Tönung dieser 3 Streifen bei *C. pallidivittatus* zwischen rötlich-gelb und dunkelbraun; der mittlere ist immer blasser. Auch die Vordertibien und, im Flügeläder, die Querader „r—m“ sind nach dieser Beschreibung bei *pallidivittatus* schwächer pigmentiert als bei *tentans*. Die Grundfärbung von Kopf und Thorax in beiden Geschlechtern wird für *tentans* grünlichgelb, für *pallidivittatus* als blaßgrün angegeben.

Nach eigener Erfahrung bilden Pigmentierung und Färbung der Imagines sehr unzuverlässige Unterscheidungsmerkmale; diagnostisch einigermaßen brauchbar ist in vielen Fällen die Pigmentierung des mittleren der 3 Mesonotalstreifen. Dieser Streifen ist bei *pallidivittatus* fast niemals ganz schwarz, sondern hell-, seltener auch dunkelbraun, bei *tentans* dagegen immer schwarz bzw. schwarz-grau. Die Pigmentierung der seitlichen Mesonotalstreifen, der Vordertibien und überhaupt aller Bestandteile des Chitinskelets kann dagegen in weiten Grenzen variieren, wenn auch *C. tentans* im Durchschnitt die dunklere Art ist. Noch weniger erlaubt die Grundfärbung von Kopf und Thorax, die von Pigment in der Hypodermis bestimmt wird, die Identifizierung der Imagines. Bei dem aus Plön und Stockholm stammenden Zuchtmaterial von *C. tentans* wird am häufigsten ein reines Dunkelgrün beobachtet, das jedoch einige Tage nach dem Schlüpfen verblaßt. Es kommen aber auch frischgeschlüpfte Imagines mit schmutzigelber Grundfarbe vor; bei *pallidivittatus* kann die Färbung zwischen hellgelbgrün, rein grün und graubraun variieren. MALLOCH (1915) beschreibt *tentans* als „pale green“, während TOWNES (1945) grünliche bis hellbraune Grundfärbung angibt; *pallidivittatus* wird von MALLOCH als gelblich bezeichnet.

Nach GOETHGEBER sind im Hypopygium der ♂♂ von *pallidivittatus* die beiden zangenförmigen Endglieder „kürzer“ als bei *tentans*; die Seitenlappen der Dorsallamelle von *pallidivittatus* werden als im Vergleich mit *tentans* „länger und schmäler“, ihr Ausschnitt bei *tentans* dementsprechend als nur „wenig tief“ und „fast bis zur Spitze“ reichend bezeichnet. Nach eigenen Beobachtungen sind sämtliche Teile des Hypopygiums von *tentans* im Durchschnitt wesentlich schlanker geformt als bei *pallidivittatus*; das Längen-Breitenverhältnis der griffelförmigen rudimentären I. Anhänge z. B. beträgt bei *pallidivittatus* etwa 3:1, bei *tentans* 5:1. Die Dorsallamelle der beiden Arten (Abb. 1) unterscheidet sich nicht nur in der Konturierung der Seitenlappen, sondern auch in der Form ihrer in Dorsal- bzw. Ventralansicht spatelartig verbreiterten distalen Spitze: Bei *tentans* ist diese im Gegensatz zu *pallidivittatus* ziemlich schmal und vorne etwas eingedellt. Ein weiterer konstanter Unterschied tritt in der Struktur des dorsalen Randes der Dorsallamelle auf: Bei *tentans* ziehen sich hier zwei flachbogenförmig und weit vorspringende Hautfalten entlang; bei *pallidivittatus* sind solche Falten kaum angedeutet. Die hier gegebene Beschreibung entspricht in allen Einzelheiten den Abbildungen von *tentans*-Hypopygien in den Arbeiten von MALLOCH (1915) und TOWNES (1945). Ein quantitativ erfassbares morphologisches Unterscheidungsmerkmal ergibt sich bei Laboratoriumskulturen aus dem Vergleich der Proportionen der Vordergliedmaßen: Die Vorderfemora sind bei *pallidivittatus* etwa 10% länger als die Vordertibien, während bei *tentans* beide Glieder etwa gleiche Länge besitzen (Tabelle 1). Auch das Längenverhältnis Vorderfemur/Mittelfemur eignet sich für einen quantitativen Vergleich.

Schließlich besteht ein merklicher Unterschied in der absoluten Körpergröße der beiden Arten. MALLOCH gibt als Länge von *pallidivittatus*-Imagines 7 mm an, doch waren sie in der Wilhelmshavener Population zwischen 8 und 10 mm lang; *tentans* wird nach eigenen Beobachtungen als Imago 10–12 mm lang. Mit der Körpergröße steht die Entwicklungsgeschwindigkeit in engem Zusammenhang. In einer früheren Arbeit (BEERMANN 1952a) wurde für *tentans* eine Mindestzeit von 5 Wochen von der Ablage der Eier bis zum Schlüpfen der ersten Imagines angegeben; dies entspricht den Angaben von SADLER (1935). Unter den gleichen

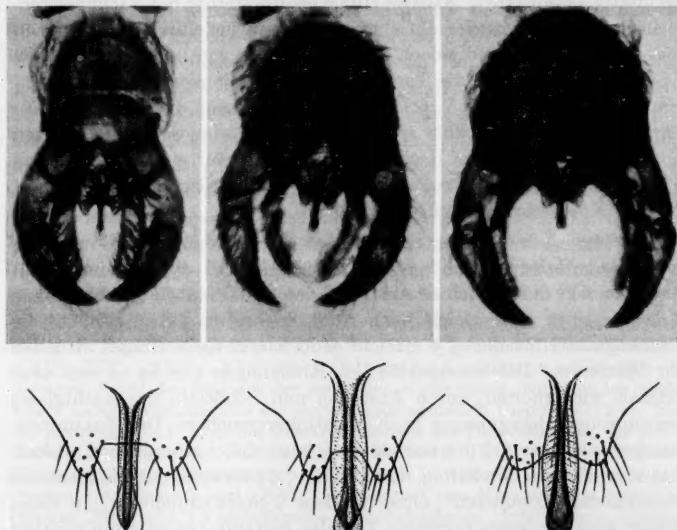


Abb. 1. Kopulationsapparat (Hypopygium) der ♂♂ von *C. tentans* (rechts), *C. pallidivittatus* (links) und dem Bastard der beiden Arten (Mitte). Obere Reihe: Dorsale Gesamtansicht der Hypopygien, untere Reihe: Dorsallamelle mit den Seitenlappen (Näheres im Text). Oben etwa 60mal, unten etwa 135mal.

Tabelle 1. Mittelwerte ( $M \pm 3 m$ ) der Längenverhältnisse Vorderfemur/Vordertibia und Vorderfemur/Mittelfemur von *C. tentans*, *C. pallidivittatus* und ihren Bastarden.

		<i>tentans</i> (verschiedene Stämme)	<i>tentans</i> × <i>pallidivittatus</i> („B V“)	<i>pallidivittatus</i> × <i>tentans</i> („B VI“)	<i>pallidivittatus</i> (1. Stamm)
Vorderfemur	♂♂	$0,98 \pm 0,05$	$1,06 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,02$	$1,08 \pm 0,02$
Vordertibia	♀♀	$1,00 \pm 0,02$	$1,06 \pm 0,02$	$1,04 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,03$
Vorderfemur	♂♂	$0,89 \pm 0,02$	$0,94 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,01$	$0,99 \pm 0,02$
Mittelfemur	♀♀	$0,88 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,02$	$0,96 \pm 0,03$

Bei  $t$ ,  $t \times p$  und  $p$  ist die Anzahl der gemessenen Individuen jeweils  $n = 10$ , bei  $p \times t$  ist sie jeweils  $n = 20$ . Als Einzelwerte sind die Mittel aus den Werten für die linken und die rechten Extremitäten zugrunde gelegt.

Bedingungen kann man bei *pallidivittatus* bereits nach 3 Wochen mit dem Erscheinen der ersten Imagines rechnen. Ob diese Differenz in der Entwicklungszeit sich gleichmäßig auf alle Larvenstadien verteilt, wurde nicht untersucht.

### 3. Kreuzungsverhalten der beiden Arten und Ergebnisse der Bastardierung.

*C. tentans* und *C. pallidivittatus* kopulieren im Gegensatz zu den meisten anderen Chironomiden nicht ausschließlich im Fluge, sind also fakultativ „stenogam“. SADLER (1935) beobachtete in der Natur schwärzende ♂♂ von *C. tentans*, einzeln in die Schwärme einfliegende ♀♀ und fliegende Kopulae, fand jedoch bei der Aufzucht von Imagines in großen Drahtnetzkäfigen, daß die Tiere auch sitzend kopulieren. Eigene Freilandbeobachtungen an *C. pallidivittatus* bestätigen die Befunde SADLERS. Im Labor, und wohl auch in der Natur, dauert die Kopulation höchstens 30 sec; in der Regel können die ♀♀ nur einmal kopulieren, und nach einiger Zeit weisen sie aktiv, unter Einschlagen des Abdomens, weitere Kopulationsversuche der ♂♂ ab.

Gehören ♂ und ♀ der gleichen Art an, so kopulieren die Partner meist unmittelbar, sobald sie im Paarungsgefäß aufeinandertreffen; dies läßt sich durch leichtes Anstoßen des Gefäßes noch beschleunigen. Alle Imagines sind gleich nach dem Schlüpfen paarungsfähig; die Paarungsaktivität der ♂♂ erreicht jedoch erst nach einigen Stunden ihr Maximum. Bei interspezifischen Kreuzungen kommt es erst nach oftmals wiederholten, durch Anstoßen und Schütteln des Zuchtglases erzwungenen Begegnungen zu Kopulationsversuchen. Das Zusammenbringen mehrerer ♂♂ mit nur einem ♀ kann dabei stimulierend wirken, hat aber oft auch den Erfolg, daß nur die ♂♂ paarweise oder zu mehreren miteinander „kopulieren“, ohne von dem ♀ Notiz zu nehmen. In vielen Fällen kommen keine normalen Kopulae zustande; es ist dann deutlich zu erkennen, wie das ♂ mit den zangenförmigen Endgliedern des Hypopygiums immer wieder vom Abdomen des ♀ abgleitet. Am besten gelingt die Paarung in der Kreuzungskombination *tentans*-♀ × *pallidivittatus*-♂; hier wurde in einer Versuchsserie aus dem Jahre 1950 unter 13 daraufhin kontrollierten Paarungen in 10 Fällen eine äußerlich normale Kopulation beobachtet, in der reziproken Kombination dagegen in nur 4 von 12 Versuchen. Dieser Unterschied hat sich in anderen Versuchen bestätigt.

Bei 5 von den 8 Kreuzpaarungen, die eine F<sub>1</sub> lieferten, konnte die Kopulation der Elterntiere beobachtet werden; die 3 Ausnahmen gehören zu den insgesamt 4 gelungenen Versuchen der Kombination *pallidivittatus*-♀ × *tentans*-♂. Vielleicht können in dieser Kreuzungskombination Spermien auch ohne reguläres „Einrasten“ der Kopulationszangen übertragen werden. Der umgekehrte Fall — keine Übertragung von Spermien, trotz scheinbar normaler äußerer Kopulation

von langer Dauer — bildete in einer neuen Versuchsserie (insgesamt 11 Paarungen), in welcher die Spermatheken der ♀♀ nach Ablage der Eier kontrolliert wurden, bei der Kombination *tentans*-♀ (Laboratoriumsmaterial)  $\times$  *pallidivittatus*-♂ (in der Natur eingefangen) die Regel. Entsprechende Ergebnisse über die Kombination *pallidivittatus*-♀  $\times$  *tentans*-♂ liegen noch nicht vor; es zeigt sich aber klar genug, daß aus dem Kopulationsverhalten kein sicherer Schluß auf den Erfolg der Paarung gezogen werden kann. Die Häufigkeit der tatsächlich eine  $F_1$  ergebenden interspezifischen Paarungen ist denn auch erheblich geringer als die Häufigkeit der beobachteten Kopulae: Nur 2 von insgesamt 19 protokollierten Einzelkreuzungen der Kombination *tentans*-♀  $\times$  *pallidivittatus*-♂ und 2 von 16 Kreuzungen der Kombination *pallidivittatus*-♀  $\times$  *tentans*-♂ ergaben Nachkommenschaft (Versuchsserie 1950). Von 11 Paarungsversuchen der Kombination *tentans*-♀  $\times$  *pallidivittatus*-♂ (Versuchsserie 1954) war einer erfolgreich (die restlichen 3 Paarungen mit positivem Resultat entstammen verschiedenen, nicht planmäßig durchgeführten Versuchsserien). In beiden Kreuzungskombinationen sind also — ohne Berücksichtigung der Nachkommennzahl — etwa 10% der Einzelpaarungen fertil.

Die Herkunft der Elterntiere scheint keinen wesentlichen Einfluß auf den Erfolg der Artkreuzungsversuche zu haben. Bei 4 gelungenen Bastardierungen („BI“, „BII“, „BIII“, „BV“), davon „BI“ aus der Kombination *pallidivittatus*-♀  $\times$  *tentans*-♂ und der Rest aus der reziproken Kombination, entstammten beide Eltern Laboratoriumszuchten des gleichen geographischen Ursprungs (Plön). Bei der Kreuzung „BIV“ kam das *tentans*-♀ ebenfalls aus Plöner Material, das *pallidivittatus*-♂ dagegen war Wilhelmshavener Herkunft. „BVI“ ist ein gelungener Einzelversuch der Kombination *pallidivittatus*-♀ (Oxford „wild“)  $\times$  *tentans*-♂ (Stamm „Stockholm“), und „BVII“ repräsentiert eine Kreuzung von *tentans*-♀ (Stamm „Stockholm“)  $\times$  *pallidivittatus*-♂ (Wilhelmshaven „wild“). Eine Wiederholung der Kreuzungskombination „BVI“ (*pallidivittatus* Oxford-♀  $\times$  *tentans*-Stockholm ♂) war aus Materialmangel nicht möglich; es ist wohl Zufall, daß hier gleich der erste Kreuzungsversuch Erfolg hatte.

Im Gegensatz zu den intraspezifischen Paarungen, welche in der Regel Gelege ergeben, deren Eier zu über 95% besamt sind — die Größe der Gelege schwankt zwischen 500 und 3000 Eiern —, blieb bei den interspezifischen Kreuzungen, soweit sie überhaupt fruchtbar waren, stets ein Teil der Eier unentwickelt. In 4 Fällen zeigten weniger als 5% der Eier den typischen Furchungsverlauf (Abgliederung der Polzellen etwa 2 Std nach der Ablage, anschließend Ausbildung des normalen Blastoderms) und entwickelten sich normal weiter; in weiteren 3 Versuchen wurden nach den gleichen Kriterien 25, 40 und 70% befruchtete Eier gezählt. Es ist cytologisch nicht geprüft worden, ob die nicht gefurchten und die zeitlich und anatomisch anomal entwickelten Eier tatsächlich unbesamt geblieben sind. Das Verhalten dieser Eier ist jedoch völlig dem Entwicklungsbild analog, welches in

den Gelegen sicher unbegatteter ♀♀ beobachtet wird; auch hier zeigt sich zwar vereinzelt eine verspätete parthenogenetische Entwicklung, es schlüpfen aber niemals lebensfähige Larven. Der Füllungszustand der Spermatheken des ♀ ist bei den Kreuzungen „B VI“ und „B VII“ geprüft worden: Die Spermatheken des (*pallidivittatus*-) P. ♀ von „B VI“ (40% befruchtete Eier) waren leer, doch fand sich im Präparat noch ein kleines Spermienbündel, das möglicherweise einer geplatzten Spermatheke, vielleicht auch der Vagina entstammte. Im Falle „B VII“ (70% befruchtete Eier) enthielten beide Spermatheken des (*tentans*-) P. ♀ noch große Mengen von Spermien.

Aus sämtlichen Eiern, deren Furchungsverlauf und Embryonalentwicklung nach der Lebendbeobachtung als normal zu bezeichnen war, schlüpften voll vitale F<sub>1</sub>-Larven beiderlei Geschlechts, die in der gewohnten Weise aufgezogen wurden. Bereits im 3. Larvenstadium lässt sich die Bastardnatur der Larven cytologisch erkennen; das Geschlecht ist naturgemäß erst mit Einsetzen der Metamorphose zu bestimmen. In F<sub>1</sub>-Nachkommenschaften mit großen Individuenzahlen traten keine auffälligen Abweichungen vom normalen Geschlechtsverhältnis auf („B VI“ 63 ♀♀: 80 ♂♂, „B VIII“ 57 ♀♀: 47 ♂♂).

#### 4. Die Bastarde.

Morphologisch nehmen die Bastardimagines eine Mittelstellung zwischen den reinen Arten ein. Das gilt, soweit es sich nach dem subjektiven Eindruck beurteilen lässt, zunächst von ihrer durchschnittlichen Körpergröße und dem Grade der allgemeinen Pigmentierung des Chitinskelets; der mittlere Mesonotalstreifen zeigt bei den Bastarden im Mittel eine braune bis dunkelbraune Tönung; seine Ausprägung fällt damit in den Variationsbereich von *pallidivittatus*, darf aber trotzdem als intermediär angesprochen werden, da im Labor aufgewachsene *pallidivittatus*-Imagines stets hell pigmentiert sind.

Die Proportionen von Endgliedern und Anhängen des Hypopygiums der Bastard-♂♂ sind gleichfalls intermediär (Abb. 1). In den Einzelheiten, speziell in der Struktur der Dorsallamelle herrschen die Eigenarten der einen oder der anderen Elternart vor: So ist zwar der Ausschnitt zwischen den Zipfeln der beiden Seitenlappen bei den Bastarden tiefer als bei *tentans* und nicht so tief wie bei *pallidivittatus*, doch ist er gleichzeitig schmäler als bei *pallidivittatus*, womit die beiden Seitenlappen im Bastard eine neue, charakteristische Kontur erhalten. Die distale Spitze der Dorsallamelle ist wie im Falle von *pallidivittatus* spatelartig, aber weniger stark, erweitert, und es fehlt ihr die deutliche Einbuchtung wie sie *tentans* besitzt; andererseits weisen die flügelartigen vorspringenden Falten wieder auf *C. tentans* hin.

Die Mittelstellung der Bastard-Imagines läßt sich an den Proportionen der Vordergliedmaßen auch quantitativ erfassen (vgl. Tabelle 1). Nach den Messungen an den Tieren der Kreuzung „BV“ (*tentans*-♀ × *pallidivittatus*-♂) liegt hier der Mittelwert des Längenverhältnisses Vorderfemur/Vordertibia deutlich nach dem Wert von *pallidivittatus* hin verschoben, entspricht in der Kreuzung „BVI“ (*pallidivittatus*-♀ × *tentans*-♂) jedoch dem bei genau intermediärer Ausprägung zu erwartenden Wert. Ähnliches gilt von dem Verhältnis Vorderfemur/Mittelfemur; bemerkenswert ist in diesem Falle nur, daß sich ♂♂ und ♀♀ der Kreuzung „BV“ stark unterscheiden, während die entsprechenden Werte bei den Imagines der Kreuzung „BVI“ in beiden Geschlechtern praktisch gleich sind.

In physiologischer Hinsicht interessiert in erster Linie die Frage nach der Vitalität und der Fertilität der  $F_1$ -Bastarde. Für die Vitalität läßt sich bei der augenblicklich gebräuchlichen Züchtungsmethodik, die zu viele nicht kontrollierbare Variationsmöglichkeiten einschließt, kaum ein objektives Maß angeben. Beurteilt man sie nach der Kräftigkeit der Larven und Imagines und nach dem Schlüpferverhalten der Puppen, so ist gegenüber den reinen Arten bei den Bastarden kein Nachlassen der Vitalität festzustellen; im Vergleich zu manchen in-gezüchteten Elternstämmen erscheinen die  $F_1$ -Tiere sogar deutlich lebenskräftiger. Dies gilt für Bastarde beider Kreuzungsrichtungen. Hervorzuheben ist dabei die Fertilität der *Camptochironomus*-Bastarde:  $F_1$ -Imagines beider Kombinationen sind mit Individuen beider Elternarten und untereinander nahezu unbeschränkt kreuzbar und ergeben dabei Gelege mit 80—100% entwickelten Eiern; auf die Kreuzungsergebnisse wird im einzelnen noch in einer zweiten Arbeit eingegangen werden. Die Entwicklungsdauer der  $F_1$ -Larven liegt im Minimum zwischen den Minima der beiden reinen Arten, also zwischen 3 und 5 Wochen: In einem Fall betrug die Zeitspanne von der Ablage der Eier bis zum Schlüpfen der ersten Imago genau 4 Wochen, in den anderen Fällen  $4\frac{1}{2}$ —5 Wochen.

## II. Der Chromosomenbestand der beiden Arten und ihres Bastards.

### 1. Allgemeines.

Die Grundlage der folgenden Gegenüberstellung bilden die in einer früheren Arbeit veröffentlichten Chromosomenkarten von *Chironomus tentans* (BEERMANN 1952a). Wie *C. tentans*, so besitzt auch *C. pallidivittatus* haploid 3 lange, medio- bzw. submediokinetiche und ein kurzes, telokineticisches Chromosom; die mitotischen Chromosomen-sätze beider Arten sind also nicht voneinander zu unterscheiden. Der einzige auch in Kernen niedriger Polytäniestufe gelegentlich noch feststellbare Gegensatz im Karyotypus — abgesehen vom Chromomerenmuster

der einzelnen Chromosomen selbst — besteht darin, daß *C. pallidivittatus* nur einen Nukleolus besitzt, während *C. tentans* zwei Nukleolen ausbildet, die allerdings oft miteinander verschmolzen sind (vgl. S. 237).

Im allgemeinen Habitus gleichen die polytären Chromosomen von *C. pallidivittatus* völlig denen von *C. tentans*. Bis auf einzelne schwer analysierbare Inhomologien im linken Arm des 2. Chromosoms und im 4. Chromosom, auf welche im einzelnen noch eingegangen wird, lassen sich die Artunterschiede im Querscheibenmuster sämtlich auf parakinetische (parazentrische bzw. intrabrachiale) Inversionen zurückführen. Obwohl die Kinetochor-Regionen der 3 langen V-förmigen Chromosomen im Querscheibenmuster nicht besonders hervortreten, also nicht direkt cytologisch bestimmbar sind, kann ihre Lage doch mit großer Sicherheit in jenen mittleren Chromosomenbereichen vermutet werden, die in keinem Fall von den zahlreichen intra- und interspezifischen Inversionen mit eingeschlossen werden; und umgekehrt folgt aus dem Freibleiben dieser mittleren Abschnitte, daß keine der bisher aufgefundenen Inversionen transkinetisch (perizentrisch) ist. Ebensowenig haben Translokationen zur cytologischen Evolution der beiden Arten beigetragen. Daher durften die Bezeichnungen der einzelnen Chromosomenarme von *C. tentans* (BEERMANN 1952a) ohne weiteres auf die homologen Chromosomenarme von *C. pallidivittatus* übertragen werden, wie dies bei der Gegenüberstellung in den Abb. 2, 13, 20, 23, 28 und 34 geschehen ist.

Unter Einfügung einiger inzwischen als notwendig erkannter Begrichtigungen sind die in dieser Arbeit abgebildeten Chromosomenkarten von *C. tentans* direkt nach den früher veröffentlichten Karten umgezeichnet worden. In 2 Fällen, bei der Darstellung der Chromosomenarme 1L und 2R (Abb. 2 und 20), wurde nicht die Standardanordnung, sondern eine homozygot invertierte Anordnung als Vergleichsgrundlage verwendet, um das Minimum an Inversionsunterschieden zwischen den beiden Arten einfach demonstrieren zu können; die Standardanordnungen der Chromosomen von *C. pallidivittatus* wurden von vornherein unter dem Gesichtspunkt der größten Verwandtschaft mit *C. tentans* definiert. Nach Kenntnis der interspezifischen Inversionsunterschiede konnte bei der kartenmäßigen Darstellung der Chromosomen von *C. pallidivittatus* im wesentlichen auf die Chromosomenkarten von *C. tentans* zurückgegriffen werden. Bei den nicht homologisierbaren Teilen der Chromosomen 2L und 4 dienten Originalzeichnungen als Vorlage. An einzelnen Stellen war außerdem eine Korrektur der Querscheibenabstände notwendig; und schließlich wurden die Konturen der Chromosomen in den Karten mit den natürlichen Verhältnissen möglichst in Übereinstimmung gebracht. Einzelheiten sind der Gegenüberstellung der einzelnen Chromosomen im Absatz 2 zu entnehmen.

Die Einteilung und Benennung der Chromosomenabschnitte von *C. pallidivittatus* folgt dem gleichen Prinzip, das der Kartierung der Chromosomen von *C. tentans* zugrunde liegt (BEERMANN 1952a). Eine Neueinteilung und eigene Bezifferung der Karten von *C. pallidivittatus* war auf Grund der unklaren Homologiebeziehungen in 2L und 4 nicht zu umgehen; zudem ist damit die Beschreibung der *pallidivittatus*-Inversionen wesentlich erleichtert. Bei dem Vergleich der beiden Arten wird aber im allgemeinen von der *tentans*-Chromosomenkarte ausgegangen.

In den Tabellen 2—14 sind die Häufigkeiten der im nächsten Absatz einzeln beschriebenen intraspezifischen Genanordnungen in einigen natürlichen Populationen zusammengestellt. Hier bedeuten „Plön 1“ bis „Plön 3“ Proben aus dem Drecksee in Plön (Schilderung der einzelnen Biotope S. 200); Plön 1 wurde im November 1949, Plön 2 im Juli 1950 und Plön 3 im November 1950 gesammelt. Plön 4 ist eine Probe aus dem Bootskanal am Großen Plöner See vom April 1954. Das Material mit der Bezeichnung „Stockholm“ stammt aus dem Drottningholmer Schloßpark, und zwar vom Oktober 1952 und vom April 1953. Das Material von *C. pallidivittatus* kommt aus dem Klinkerteich und dem Drecksee in Plön; ein Teil ist 1935 von Professor BAUER gesammelt und präpariert worden, und der Rest entstammt eigenen Fängen aus den Jahren 1949 und 1950<sup>1</sup>.

Die Angaben über das Vorkommen der verschiedenen Inversionen von *C. tentans* in einer Population bei Wien (Österreich) verdanke ich Herrn Professor F. MAINX, Wien; über die Ergebnisse seiner Untersuchungen an einer *C. tentans*-Population in Oxford (England) hat mich Herr A. B. ACTON, Glasgow, liebenswürdigerweise informiert.

In der folgenden Beschreibung der einzelnen Chromosomen wurden die einfachen intraspezifischen Inversionen durch Ziffern, die komplexen Inversionen durch Ziffern mit dem Präfix „k“ und andere Chromosomenmutationen durch kleine Buchstaben bezeichnet.

## 2. Die einzelnen Chromosomen.

a) *Chromosom 1L*. Die beiden Arten unterscheiden sich in diesem Chromosomenarm nur durch eine einfache Inversion (Abb. 2). Daß für *C. tentans* früher eine Standardanordnung festgelegt wurde, die sich durch eine weitere Inversion, *In(t)1L—1* (s. unten), von *pallidivittatus*-1L unterscheidet, ist in der größeren Häufigkeit dieser Anordnung begründet (Tabelle 2). Die Bruchstellen der interspezifischen Inversion liegen in den Abschnitten 1A und 5C der *tentans*-Chromosomenkarte. Die Paarung von Chromosom 1L bei Bastard-Heterozygotie entspricht der Erwartung (Abb. 3).

<sup>1</sup> Weitere Angaben zur Populationsstatistik in der Diskussion, Abs. 3, S. 249ff.

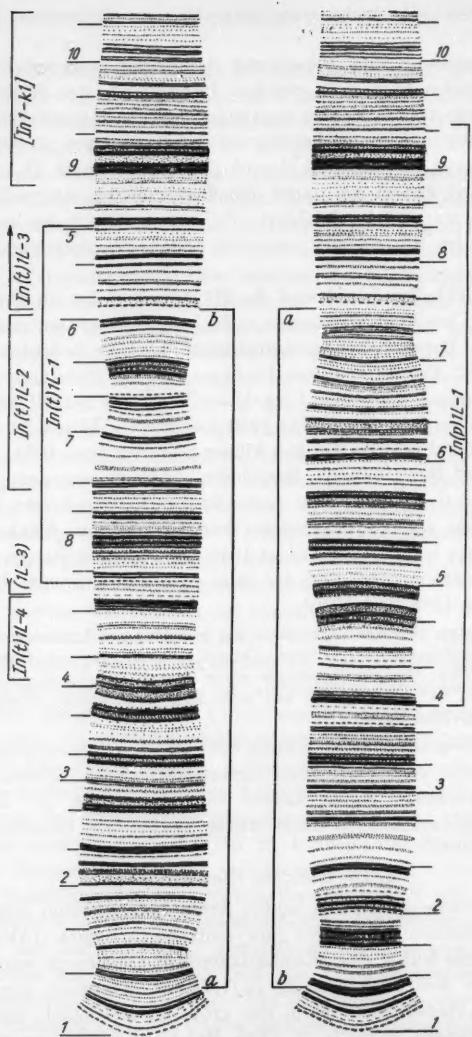


Abb. 2. Chromosomenarm 1L von *C. tentans* (links) und *C. pallidivittatus* (rechts). Hier wie bei den folgenden Karten der Speicheldrüsenschromosomen sind die interspezifischen Unterschiede in der Genanordnung aus der Buchstabenfolge an den Längstrichen zu erkennen, die jeweils zwischen den beiden Chromosomenkarten eingezeichnet sind. Die intraspezifischen Inversionen sind durch Linien an der „Außenseite“ der Chromosomen dargestellt. — Die hier gezeichnete Karte von *C. tentans* gibt nicht die Standardanordnung von 1L, sondern die homozygot invertierte Anordnung *In(t)IL-1* wieder (vgl. Text). Abbildungsmaßstab dieser und der folgenden Karten etwa 2000:1. Die Bezeichnungen *In(t)IL-3* und *In(t)IL-4* sind auszutauschen.

Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)IL-1*. Bruchstellen: 4C/5A und 8B.  
Häufig in Plön, Oxford und Wien. Fehlt in Stockholm.

*In(t)IL-2*. Bruchstellen: 5C und 7B. In Stockholm und Oxford, meist gekoppelt mit *In(t, p)1-k1* (Abb. 10).

*In(t)IL-3*. Bruchstellen: 4A und 4C. In Oxford, meist in Verbindung mit *In(t, p)1-k1* und wahrscheinlich stets mit *In(t)IL-2* und *In(t)IL-4* gekoppelt (Abb. 10).

*In(t)IL-4*. Bruchstellen: 4C und 5B. In Oxford, gekoppelt mit *In(t)IL-3* (Abb. 10).

*In(t, p)1-k1*: Wird gesondert besprochen.



Abb. 3. Speicheldrüsenschromosom 1L bei Bastard-Heterozygotie: Kombination *St(p)/In(t)IL-1*. 700mal.

Tabelle 2a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 1L von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-2</i>	<i>In-k1</i>	<i>In-k1+In-2</i>	<i>In-k1 (P)</i>	<i>n</i>
Plön 1 . .	75,8	22,6	—	—	—	1,6	62
Plön 2 . .	77,0	22,7	—	—	—	0,3	318
Plön 3 . .	75,0	22,7	—	—	—	1,3	84
Plön 4 . .	72,6	17,9	—	—	—	3,5	158
Plön 1-4 <sup>1</sup>	76,9	21,7	—	—	—	1,4	621
Stockholm .	88,7	—	2,3	4,5	4,5	—	44

<sup>1</sup> Homogenitätstest:  $\chi^2 = 2,54$ ;  $P = 0,58$  (nur für *St* und *In-1* berechnet).

Tabelle 2b. Häufigkeiten der zygotischen Kombinationen der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 1L von *C. tentans* (%).

	<i>St</i> <i>St</i>	<i>St</i> <i>In-1</i>	<i>In-1</i> <i>In-1</i>	<i>St</i> <i>In-2</i>	<i>St</i> <i>In-k1</i>	<i>St</i> <i>In-k1+2</i>	<i>St</i> <i>In-k1 (P)</i>	<i>In-1</i> <i>In-k1 (P)</i>	<i>n</i>	
Plön 1	{ gef.	54,8	38,8	3,2	—	—	—	3,2	0	31
	{ erw. <sup>1</sup>	57,5	33,8	5,2	—	—	—	2,6	0,6	
Plön 2	{ gef.	57,9	37,8	3,7	—	—	—	0,6	0	159
	{ erw. <sup>1</sup>	59,5	34,8	5,1	—	—	—	0,5	0,1	
Plön 3	{ gef.	57,2	36,7	4,7	—	—	—	2,4	0	42
	{ erw. <sup>1</sup>	57,2	34,8	5,2	—	—	—	1,9	0,6	
Plön 4	{ gef. <sup>2</sup>	60,8	26,6	5,0	—	—	—	6,3	1,3	79
	{ erw. <sup>1,2</sup>	59,5	29,3	3,5	—	—	—	5,8	1,4	
Plön 1-3	{ gef. <sup>1,3</sup>	57,3	37,5	3,9	—	—	—	1,3	0	232
	{ erw. <sup>1,3</sup>	58,9	34,7	5,1	—	—	—	1,0	0,2	
Stockholm gef.		77,3	—	—	4,5	9,1	9,1	—	—	22

<sup>1</sup> Die Kombinationen *In-k1/In-k1* bzw. *In-k1 (P) /In-k1 (P)* treten normalerweise nicht auf (vgl. S. 214); ihre Erwartungswerte sind ohnehin so gering, daß sie vernachlässigt werden können.

<sup>2</sup> Der Unterschied zwischen Plön 1-3 und Plön 4 ist statistisch nicht gesichert:  $\chi^2 = 2,0$ ;  $P = 0,3$  (ohne Berücksichtigung der Komplexheterozygoten).

<sup>3</sup>  $\chi^2 = 1,4$ ;  $P = 0,5$  (berechnet für *St* und *In-1* allein).

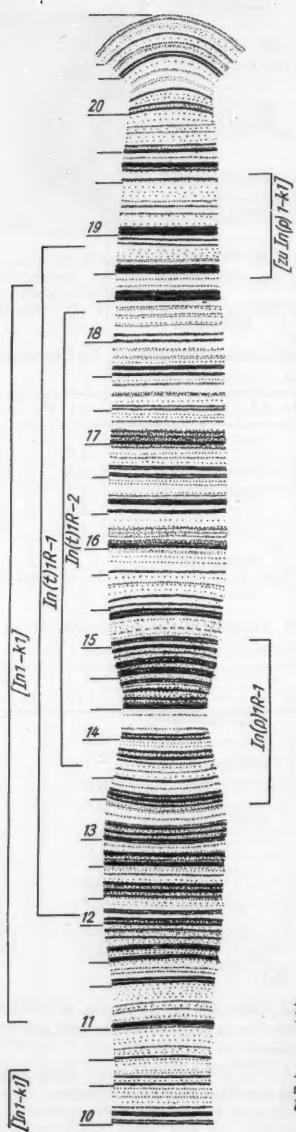


Abb. 4.



Abb. 5. Paarungslücke in der Region 19 von 1R, wie sie bei Bastard-Heterozygotie häufig auftritt. Speicheldrüsenpräparat. 1700mal.

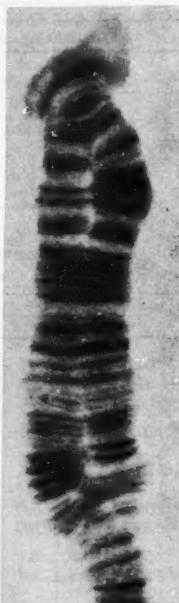


Abb. 6. *C. tentans*; Speicheldrüsenchromosom 1R, bei Heterozygotie der Kombination *In 1R-1/In 1R-2*. 900mal.

Abb. 4. Karte des Speicheldrüsen-Chromosomenarmes 1R von *C. tentans* und *C. pallidivittatus*; links die Inversionen von *tentans*, rechts die von *pallidivittatus*.

Inversionen von *C. pallidivittatus*:*In(p)1L*—1. Bruchstellen: 3C/4A und 9B. Häufig in Plön.*In(t,p)1—k1*: Wird gesondert besprochen.

b) Chromosom 1R. In diesem Chromosomenarm sind die Standardanordnungen von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* identisch (Abb. 4); trotzdem findet sich in den F<sub>1</sub>-Bastarden regelmäßig eine Störung der somatischen Homologenpaarung in den Abschnitten 19 und 20 (Abb. 5).

Ähnliche Paarungsanomalien kommen auch in den Abschnitten 16 und 17 vor. Die Darstellung der Abschnitte 14B, 14C und 15A in den Chromosomenkarten wurde revidiert.

Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)1R*—1. Bruchstellen: 12A und 18C (vgl. auch Abb. 6). Häufig in Stockholm, selten in Plön, fehlt in Oxford und Wien.

*In(t)1R*—2. Bruchstellen: 13C und 18A. Häufig in Stockholm, Oxford und Wien, selten in Plön. Tritt selbstständig auf (Abb. 6), ist aber bei *C. tentans* gleichzeitig fester Bestandteil von *In1—k1* (vgl. Abb. 7).

*In(t,p)1—k1*: Wird gesondert besprochen.

Inversionen von *C. pallidivittatus*:*In(p)1R*—1. Bruchstellen: 13A und 15A. Selten in Plön.*In(t,p)1—k1*: Wird anschließend besprochen.

Beiden Arten gemeinsame aberrante Genanordnungen:

*In(t,p)1—k1*.

Dieser Komplex von Inversionen des linken und des rechten Armes von Chromosom 1 ist bei den beiden Arten mit verschiedenen und zudem bei *C. tentans* von Population zu Population wechselnden weiteren Inversionen kombiniert und tritt stets nur heterozygot auf. Seine Grundlage bilden eine lange Inversion im rechten Arm des Chromosoms, mit den Bruchstellen in den Abschnitten 11A — unmittelbar am mutmaßlichen Kinetochor — und 18B, sowie eine kurze Inversion im linken Arm, mit den Bruchstellen 9A und 10B (Abb. 4, 7, 8). Hier tritt außerdem als Charakteristikum des Komplexes im Bereich des (mitinvertierten)

Tabelle 3a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 1L von *C. pallidivittatus*.

	St	In-1	In-k1 (pall)	n
Plön 1934	50,0	47,4	2,6	38
Plön 1949/50	57,5	42,5	0	40
Zusammen <sup>1</sup>	53,9	44,8	1,3	78

<sup>1</sup> Homogenitätstest:  $\chi^2 = 0,29$ ; P = 0,6 (ohne Berücksichtigung von *In-k1*).

Tabelle 3b. Häufigkeiten (%) der zygotischen Kombinationen des Chromosomenarmes 1L von *C. pallidivittatus*.

	St St	St In-1	In-1 In-1	In-1 In-k1 (pall)	n
Plön 1934	31,6	36,8	26,3	5,3	19
Plön 1949/50	30,0	55,0	15,0	0	20
Zusammen (erw.) <sup>1</sup>	30,7 29,0	46,2 48,4	20,5 20,0	2,6 1,2	39

<sup>1</sup> Außerdem 1,4% St/*In-k1*. *In-k1*/*In-k1* fällt wahrscheinlich aus.

Tabelle 4a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 1R von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-2</i>	<i>In-k1</i>	,,Ins“ 1R	n
Plön 1 . . .	93,6	1,6	3,2	1,6	0	62
Plön 2 . . .	96,3	0,6	0,6	0,3	2,2	318
Plön 3 . . .	96,4	1,2	0	1,2	1,2	84
Plön 4 . . .	93,1	1,2	0	3,8	1,9	158
Stockholm .	50,0	18,1	22,7	9,1	—	44

Tabelle 4b. Beobachtete Individuenanzahlen der verschiedenen zygotischen Kombinationen des Chromosomenarmes 1R von *C. tentans*.

	<i>St</i> <i>St</i>	<i>St</i> <i>In-1</i>	<i>St</i> <i>In-2</i>	<i>In-1</i> <i>In-2</i>	<i>St</i> <i>In-k1</i>	<i>In-1</i> <i>In-k1</i>	<i>St</i> ,,Ins“	n
Plön 1 . . .	27	1	2	0	1	0	0	31
Plön 2 . . .	147	2	2	0	1	0	7	159
Plön 3 . . .	39	1	0	0	1	0	1	42
Plön 4 . . .	68	2	0	0	6	0	3	79
Stockholm .	4	4	7	3	3	1	—	22

Tabelle 5a. Häufigkeiten der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 1R von *C. pallidivittatus* (%).

	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-k1 (pall)</i>	,,Ins“ 1R	n
Plön 1934	92,1	2,6	2,6	2,6	38
Plön 1949/50	95,0	0	0	5,0	40
Zusammen	93,5	1,3	1,3	3,9	78

Tabelle 5b. Gefundene Individuenanzahlen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen des Chromosomenarmes 1R von *C. pallidivittatus*.

	<i>St</i> <i>St</i>	<i>St</i> <i>In-1</i>	<i>St</i> <i>In-k1 (pall)</i>	<i>St</i> ,,Ins“ 1R	n
Plön 1934	16	1	1	1	19
Plön 1949/50	18	0	0	2	20
Zusammen	34	1	1	3	39

letzten Drittels von 8C eine stark gefärbte, anscheinend heterochromatische Doppelscheibe neu auf (Abb. 7, 8, 10). Inhomologien (überzählige Querscheiben) sind auch an zwei anderen Stellen des komplexen Chromosoms nachzuweisen (Abb. 8, 9, 10).

Bei *C. tentans* enthält die komplexe Genordnung 1—k1 im rechten Arm zusätzlich stets die Inversion *In (t)1R—2*, so daß der größte Teil des Armes reinvertiert ist (vgl. Abb. 4 und 7). Im linken Arm können sich, wie erwähnt, den unveränderlichen Bestandteilen des Komplexes verschiedene Inversionen überlagern oder mit ihm gekoppelt auftreten, so in Stockholm und Oxford die Inversion *In (t)1L—2* und in Oxford

außerdem die Inversionen *In(t)1L-3* und *In(t)1L-4*, letztere meist in der Kombination *1L-3,4,2* (zum Teil nach briefl. Mitteilung, und

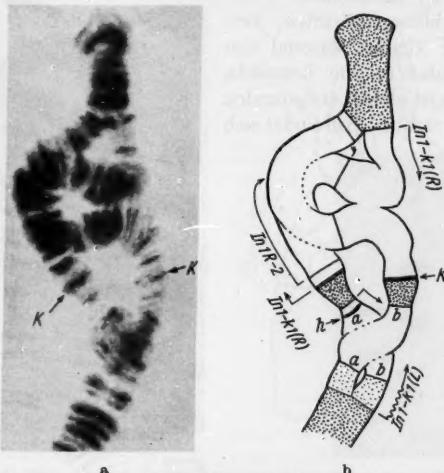


Abb. 7 a u. b. *C. tentans*, Speicheldrüsenchromosom 1 (Regionen 8—20) bei Heterozygotie der komplexen Inversion *In 1—k 1* mit Standard; typisches Bild, ohne zusätzliche Inversionen im linken Arm des Chromosoms (Abb. 10, 11). In b sind die in ihrer relativen Lage unveränderten Abschnitte der beiden Partner durch Punktierung hervorgehoben; die Inversionen des komplexen Partners wurden markiert und das Bestehen kleinerer Inhomogenien im (relativ nicht invertierten) Abschnitt 8B durch lockere Punktierung angedeutet. K vermutliche Lage des Kinetochors, h auffällige heterochromatische Scheibe. 1000 mal.

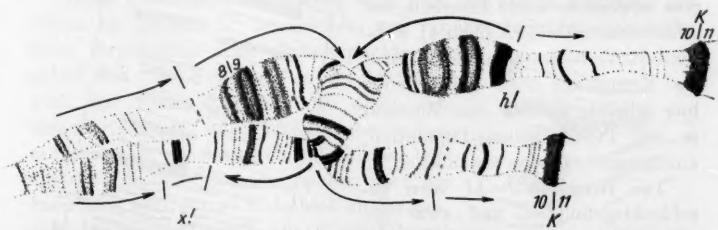


Abb. 8. *C. tentans*; Malpighigefäß-Chromosom 1, Abschnitt 8—10, bei Heterozygotie für das komplexe Chromosom *In 1—k 1*. Inversion der Abschnitte 8C—10B, angedeutet durch dicke Pfeile. K vermutliches Kinetochor, h auffällige heterochromatische Scheibe ohne Homologon im Standardchromosom, x! nicht homologisierbarer, „überzähliger“ Abschnitt. 2400mal.

nach Präparaten von ACTON, vgl. Abb. 10). Im Plöner *tentans*-Material weist der linke Arm des komplexen Chromosoms stets eine lange zusätzliche Inversion mit Bruchstellen in 3C und in dem invertierten

Abschnitt 9B auf (Abb. 11). Diese Anordnung wird in Tabelle 2 als  $In(t)1-k1(P)$  bezeichnet.

In dem bisher geprüften, verhältnismäßig kleinen Material von *C. pallidivittatus* ist die komplexe Anordnung erst einmal aufgefunden worden. Im rechten Arm findet sich



Abb. 9. *C. tentans*. Malpighigefäß-Chromosom 1, Abschnitt 8B, bei Heterozygotie für  $In 1-k1$ . Im komplexen Partner links unten zwei kräftig gefärbte Scheiben zu erkennen, denen bei Standard eine kräftige und eine sehr blassescheibe lagemäßig entsprechen. 2000mal.

eine zusätzliche kurze Inversion der Abschnitte 18C—19A (Abb. 4), während die Verhältnisse im linken Arm des Komplexes noch unklar sind; hier scheint, ähnlich dem Zustand in der Plöner *tentans*-Population, eine lange Inversion vorzuliegen.

Die Inversion  $1-k1$  wird geschlechtsgebunden, und zwar gewöhnlich in der männlichen Linie

Abb. 10. *C. tentans*; Speicheldrüsenchromosom 1L, bei Heterozygotie für  $In 1-k1$  und die zusätzlichen Inversionen  $In 1L-2$ ,  $In 1L-3$ ,  $In 1L-4$ . Die Genanordnung relativ zu Standard ist aus der Buchstabenfolge an den Inversionsmarkierungen zu entnehmen; übrige Bezeichnung vgl. Abb. 7—9.

Nach einem Präparat von A. B. ACTON,  
Glasgow. 2400mal.

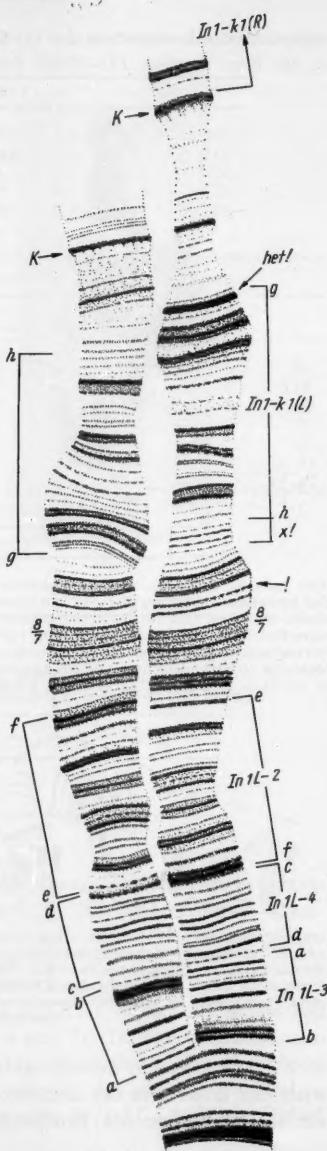


Abb. 10.

vererbt. Auf diesen Befund sei hier nur verwiesen; die ausführliche Darstellung erfolgt an anderem Orte (BEERMANN 1955, Biol. Zbl., im Druck).

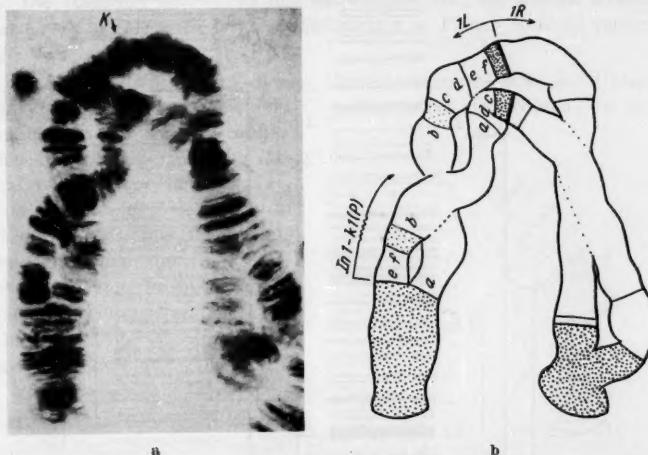


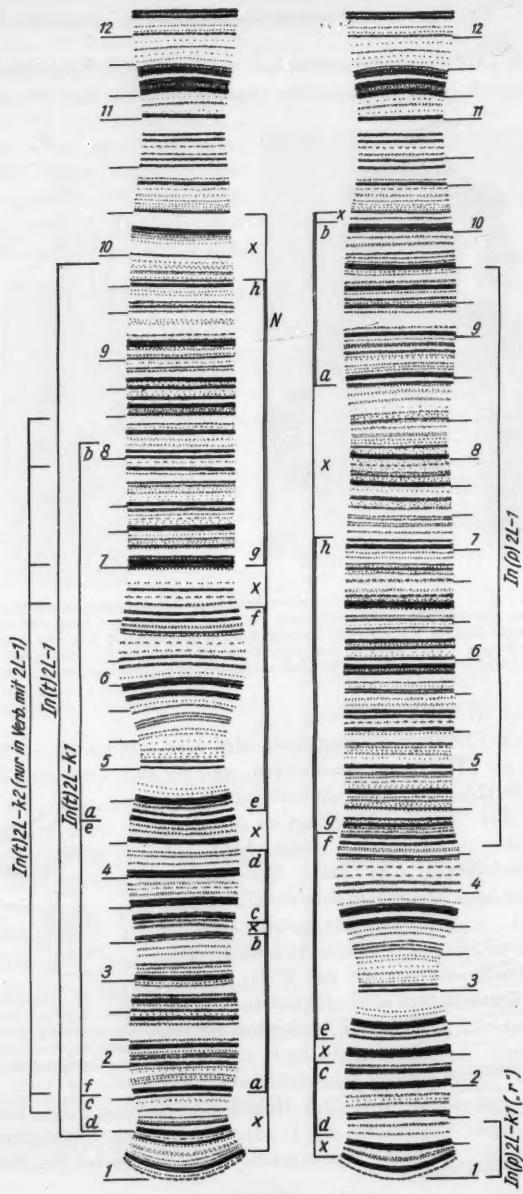
Abb. 11 a u. b. *C. tentans*; Speicheldrüsenchromosom 1, bei Heterozygotie für die komplexe Inversion *In* *I*—*k*1 (P). Abschnitte mit unveränderter relativer Lage sind in *b* punktiert dargestellt; lockere Punktierung kennzeichnet den Abschnitt 8B, der feinere Inhomogenien aufweist (vgl. Abb. 7, 9, 10). Die Genanordnung relativ zu Standard ist im linken Arm, der eine große, zusätzliche Inversion aufweist, durch Buchstaben bezeichnet. 800mal.

#### „Ins.“ (*t, p*) IR.

Diese Chromosomenmutation wird hier mit einem neutralen Terminus als „Insertion“ beschrieben, weil für ihre Deutung als gewöhnliche Duplikation keine Anhaltspunkte geben sind. Die Insertion liegt im Abschnitt 14A, der normalerweise einige dicht aufeinanderfolgende sehr zarte Querscheiben aufweist, von denen nur eine deutlicher hervortritt. Enthält das Chromosom aber die Insertion (Abb. 12), so findet sich an der gleichen Stelle eine Gruppe von 6 gut erkennbaren Querscheiben in charakteristischer Anordnung und Ausprägung; außerdem ist der eingefügte Chromosomenabschnitt durch eine scharfe Einschnürung gekennzeichnet. Aus dem cytologischen Bild sind Homologiebeziehungen der Insertion zu den übrigen Abschnitten des 1. oder der anderen Chromosomen nicht abzuleiten; spezifische Paarungstendenzen, wie sie bei Duplikationen zu



Abb. 12. Insertion (Duplikation) unbestimmter Homologie im Abschnitt 14 des Chromosoms 1, „Ins.“ (*t, p*) IR. Speicheldrüsenpräparat, 2000mal.



erwarten wären — im Anklang etwa an die Verhältnisse im X-Chromosom von *Sciara* (METZ und LAWRENCE 1938) — bestehen nicht.

Die Insertion trat bisher nur heterozygot auf; sie kommt sowohl bei *C. tentans* als auch bei *C. pallidivittatus* in Plöner Material vereinzelt vor.

c) Chromosom 2L. In diesem Chromosomenarm sind die Unterschiede zwischen *C. tentans* und *C. pallidivittatus* am größten; die Inhomologien reichen vom äußersten linken Ende bis zum Abschnitt 10B in der Mitte des Chromosoms (Abb. 13). Im Abschnitt 11 mußte die ältere Darstellung des Querscheibenmusters revidiert werden; die Änderungen sind aus einem Vergleich von Abb. 13 mit der Chromosomenkarte von 1952 zu ersehen.

Der Chromosomenarm 2L gliedert sich in mindestens 8 bei den beiden Arten unterschiedlich angeordnete Teilabschnitte, deren Homologisierung nur zum Teil gelungen ist. Die nicht identifizierten Strecken haben sich für einen Vergleich des Querscheibenmusters als zu kurz erwiesen; auch sind sie in den Speicheldrüsen- wie in den Malpighi-Gefäßkernen stets ungepaart. Nur in einem Fall ist die Homologisierung eines Abschnittes von vergleichbar geringer Länge durch die Analyse der Malpighigefäß-Chromosomen gegliedert (Abb. 14).

Von der *tentans*-Chromosomenkarte ausgehend findet man bei *C. pallidivittatus* folgende Genanordnung: 1A/xx/4A—3B/xx/4B—6C/7A—9C/xx/1C—3B/xx/10B—. Zur Herstellung dieser Anordnung aus dem *tentans*-Chromosom 2L (oder umgekehrt) wären, nach der Anzahl der erkannten Bruchstellen, mindestens 5 Inversionen erforderlich; da die nicht homologisierbaren Abschnitte zum Teil sicher noch zusammengesetzt sind, also nach eventueller Identifizierung ihres Querscheiben-

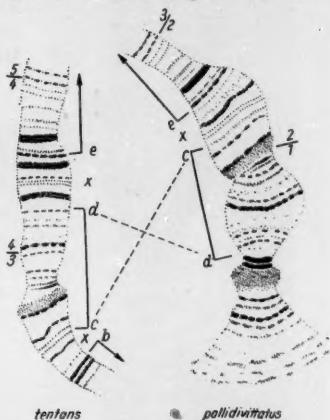


Abb. 14. Einzeldarstellung der Homologiezuordnungen eines kurzen Abschnitts im Bereich 3B—4A des 2. Chromosoms von *C. tentans* mit einem Abschnitt im Bereich 1B—2A von *C. pallidivittatus*. Malpighigefäß-Chromosomen. 2200mal.

Abb. 13. Karten des Speicheldrüsen-Chromosomenarmes 2L, links von *C. tentans*, rechts von *C. pallidivittatus*. Nukleolenbildungsort, x nicht homologisierbare Abschnitte, sonst Anordnung und Bezeichnung wie in Abb. 2. Die Abschnittsgrenzen 10B/10C und 11B/11C sind bei *C. tentans* gegenüber der Karte von 1952 (BEERMANN 1952a) verändert. In (l) 2L—k 1a ist nicht eingetragen.

musters in weitere Teilabschnitte zerlegt werden müßten, ist die wirkliche Anzahl der Inversionsschritte, durch die sich die beiden Arten in diesem Chromosomenarm unterscheiden, auf 6 oder 7 zu schätzen. Die

Annahme anderer als durch Inversionen bedingter Unterschiede ist unnötig.

Da im Chromosom 2L eine große Anzahl intraspezifischer Inversionen vorkommen, gibt es verschiedene Möglichkeiten von Paarungskon-



Abb. 15.

Abb. 15. Paarungsconfiguration des Chromosoms 2L bei Bastard-Heterozygotie *St(t)/St(p)*. Linker Partner *C. pallidivittata*, rechter *C. tentans*. N Nukleolenbildungsorte (beachte Inhomologie!). Speicheldrüsenträpräparat. 900mal.

Abb. 16. *C. tentans*; Inversion *In(t)2L-k1*, gepaart mit *St*. N Nukleolenbildungsort. Im Schema ist die (Doppel-)Inversion schwarz dargestellt. Speicheldrüsenträpräparat. 1100mal.

figurationen bei Bastard-Heterozygotie; Abb. 15 stellt den häufigsten Paarungszustand dar. Andere als die durch die Inhomologien verursachten Paarungsunterbrechungen treten dabei nicht auf.

#### Inversionen von *C. tentans*.

*In(t)2L-1*. Bruchstellen: 1A und 9C. Sehr häufig in Plön, Stockholm und Oxford, häufig auch in Wien. Da die Inversion die Nukleolenbildungsstelle (vgl. Abschnitt 3) einschließt, liegt in der invertierten Anordnung der Nukleolus terminal (vgl. z. B. Abb. 18).

*In(t)2L-k1*. Bruchstellen: 1A/1B, 1C, 4B, 8A. Es handelt sich um zwei übergreifende Inversionen; die einfach invertierte Zwischenform mit den Bruchstellen 1C und 8A kommt selbständige nicht vor. In der neuen Anordnung liegen

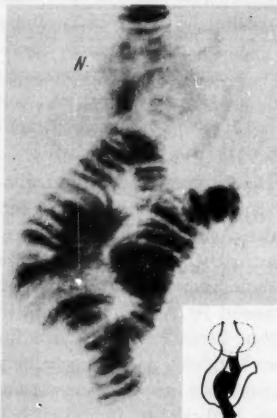


Abb. 16.

die dislozierten Abschnitte in der Reihenfolge: 1A/4B—8A/1C—1B/4B—1C/8A—. Kommt vor in Plön, Oxford und Wien, stets als Heterozygote (Abb. 16) und in mäßiger Häufigkeit. Auf den geschlechtsgebundenen Erbgang dieser Komplexinversion (BEERMANN 1953) wird an anderer Stelle näher eingegangen.

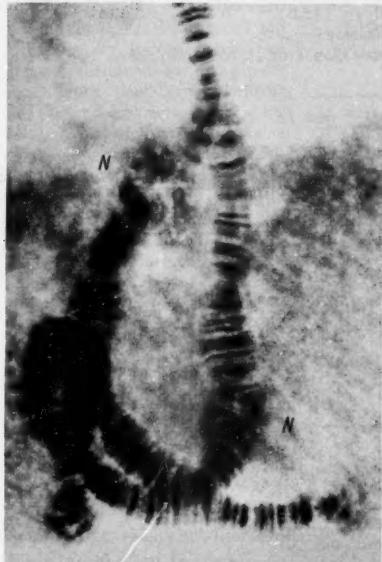


Abb. 17.

Abb. 17. *C. tentans*; Inversion  $In(t)2L-k1a$ , gepaart mit *St*. Hier ist durch eine zusätzliche Inversion der Nukleolusbildungsort verlagert, vgl. Abb. 16. Speichelröhrenpräparat. 900mal.

Abb. 18. *C. tentans*; Inversion  $In(t)2L-k2$ , gepaart mit  $In(t)2L-I$  (im Bilde der Partner links). *N* Nukleolusbildungsort. Näheres im Text. Montage zweier verschiedener Aufnahmen aus dem gleichen Speichelröhrenpräparat. 1100mal.

$In(t)2L-k1a$ . Bruchstellen: Wie  $In2L-k1$ , plus 2A und 9C. Dieser Komplex von 3 übergreifenden Inversionen trat bisher zweimal auf (Plön); er ist von  $2L-k1$  durch die Inhomologie im Nukleolusbereich zu unterscheiden (Abb. 17). Anordnung der dislozierten Abschnitte: 1A/4B—8A/1C—1B/4B—2A/9C—8A/1C—2A/9C—.

$In(t)2L-k2$ . Tritt nur in Verbindung mit  $In2L-I$  auf, deren Grenzen diesen Komplex einschließen (Abb. 18). Die Homologiebeziehungen zur Standardanordnung (bzw. zu  $In2L-I$ ) können nicht restlos geklärt werden. Identifizierte Bruchstellen liegen in den Abschnitten: 1B, 6C, 7A, 7C, 8A, eine weitere wahrscheinlich auf der Grenze 1B/1C. Die dislozierten Teilabschnitte bilden folgende Anordnung: — 1B6/6B2—7A1/x/7C—8A/1C—6C/x/7A2—7C/1B7—1C/8A—.

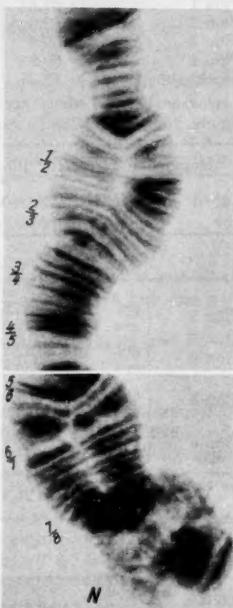


Abb. 18.

Tabelle 6a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 2L von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-k1</i>	<i>In-k1a</i>	<i>In-k2</i>	n
Plön 1 . . . . .	67,8 <sup>1</sup>	30,6	1,6 <sup>2</sup>	0	0	62
Plön 2 . . . . .	62,0	28,9	9,1 <sup>2</sup>	0	0	318
Plön 3 . . . . .	59,6	28,5	3,5	2,4	6,0	84
Plön 4 . . . . .	60,8	26,0	12,6	0	0,6	158
Stockholm . . . . .	15,8 <sup>1</sup>	84,2	—	—	—	44

<sup>1</sup>  $P = 10^{-6}$  für den Vergleich von Plön 1 und Stockholm (ohne Berücksichtigung von *In-k1*).

<sup>2</sup>  $P = 0,045$ .

Homogenitätstest für Plön 1—4 (*St* und *In-1*):  $P = 0,97$ .

Tabelle 6b. Häufigkeiten (%) der zygotischen Kombinationen der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 2L von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-1</i>	<i>In-1</i>	n
	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-1</i>	<i>In-1</i>	<i>In-k1</i>	<i>In-1</i>	<i>In-k1a</i>	<i>In-k2</i>	<i>In-k2</i>	
Plön 1	{ gef. erw.	48,4 46,0	35,5 41,4	12,9 9,4	3,2 2,2	0 1,0	—	—	—	31
Plön 2	{ gef. <sup>1</sup> erw. <sup>1</sup>	40,2 37,4	32,1 35,8	9,5 8,6	11,3 12,3	6,9 5,9	—	—	—	159
Plön 3	{ gef. erw. <sup>2</sup>	38,0 35,2	28,6 33,8	9,5 8,1	4,8 4,6	2,4 2,2	4,8 3,0	4,8 7,1	7,1 3,5	42
Plön 4	{ gef. erw. <sup>3</sup>	37,9 36,3	26,6 31,0	8,9 6,6	17,7 17,6	7,6 7,5	—	1,3 0,7	0 0,3	79
Stockholm	{ gef. erw.	4,6 2,5	22,7 26,7	72,7 70,8	—	—	—	—	—	22

<sup>1</sup>  $\chi^2 = 1,45$ ;  $P = 0,84$ .

<sup>2</sup> Restliche Erwartungswerte:  $In-1/In-k1a = 1,5$ ;  $In-k1/In-k2 = 0,4\%$ ;  $In-k1a/In-k2 = 0,3\%$ ;  $In-k2/In-k2 = 0,3\%$ .

<sup>3</sup> Restliche Erwartungswerte:  $In-k1/In-k2 = 0,2\%$ ;  $In-k2/In-k2 = 0,004\%$ .

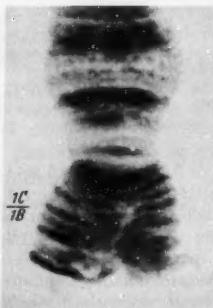


Abb. 19 a u. b. *C. pallidivittatus*; Inversion *In(p)2L-k1*, mit *St* gepaart. Auffallende Vermehrung des terminalen Heterochromatins. a Speicheldrüsenträgerpräparat. 1500mal.  
b Malpighie's foot-Präparat. 2200mal.

Aus der vorliegenden Anordnung der identifizierten Chromosomenabschnitte muß die Anzahl der in diesem Komplex einander überlagerten Inversionen auf etwa 6 geschätzt werden, falls keine anderen Chromosomenmutationen an seiner Entstehung beteiligt sind.

Inversionen von *C. pallidivittatus*:

*In(p)2L-I*. Bruchstellen: 4B und 9B/C. Häufig in Plön.

*In(p)2L-k1*. Bruchstellen:

1A (terminal, vgl. Diskussion) und 1B. Mit der Inversion ist stets eine auffallende Veränderung in der Ausprägung der Terminal scheibe des Chromosoms verbunden; diese ist im Vergleich zum normalen „Telomer“ stark verdickt und läßt ihren heterochromatischen Charakter deutlich erkennen (Abb. 19). Die Inversion wird geschlechtsgebunden vererbt und ist außerdem wahrscheinlich absolut mit einer rezessiven Mutation gekoppelt, die homozygot den Ausfall der grünen Pigmentierung der Imagines bewirkt, so daß diese anfänglich röthlich gefärbt erscheinen (Mutation „r“, vgl. BEERMANN 1953a). *In 2L-k1* und *In 2L-I* sind durch crossing-over miteinander kombinierbar (vgl. Tabelle 7).

d) Chromosom 2R. Der Unterschied zwischen den beiden Arten besteht hier in 2 übergreifenden Inversionen; dabei ist bei *C. tentans* nicht die Standardanordnung, sondern die Inversion *In 2R-I* zugrundegelegt (Abb. 20). Die Bruchstellen der beiden interspezifischen Inversionen liegen in den Abschnitten 18B und 20C (terminal) sowie 16A und 19A/B (Abb. 21). Bei *C. pallidivittatus* liegt der bei *C. tentans* das Chromosomenende bildende und fächerartig gespreizte Abschnitt 19B bis 20C etwa in der Mitte des Chromosomenarmes 2L; aus diesem Lageunterschied resultiert eine beträchtliche Differenz in den relativen Querscheibenabständen (vgl. in Abb. 20 die Regionen 16A—17A von *C. pallidivittatus* mit dem Endabschnitt von *C. tentans*). — Die *tentans*-Chromosomenkarte wurde an einigen Stellen verändert, insbesondere in den Abschnitten 13—15.

Tabelle 7a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 2L von *C. pallidivittatus*.

	St	<i>In-1</i>	<i>In-k1</i> („r“) <sup>1</sup>	n
Plön 1934 . .	63,3	36,7	10,5	38
Plön 1949/50	47,5	52,5	7,5	40
Zusammen <sup>2</sup> . .	55,1	44,9	9,0	78

<sup>1</sup> *In-k1* („r“) tritt sowohl mit *St* als auch mit *In-1* kombiniert auf und wird daher getrennt registriert.

<sup>2</sup> Homogenitätstest (für *St* und *In-1*):  $\chi^2 = 1,94$ ;  $P = 0,16$ .

Tabelle 7b. Anzahlen der Individuen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen des Chromosomenarmes 2L von *C. pallidivittatus*.

	<i>St</i>	<i>St</i>	<i>In-1</i>	+	<sup>1</sup>	n
	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-1</i>	<i>In-k1</i>		
Plön 1934 . .	8	8	3	4		19
Plön 1949/50	5	9	6	3		20
Zusammen . . .	13	17	9	7		39
(erw. . . .)	11,9	19,2	7,9			

<sup>1</sup> Die Heterozygoten  $\frac{+}{In-1} \frac{In-k1}{+}$  und  $\frac{In-1}{+} \frac{In-k1}{+}$  sind im cytologischen Bild nicht zu unterscheiden.

Bei Bastard-Heterozygotie sind im Chromosom 2R keine anderen als die durch die Inversionen bedingten Paarungsstörungen festzustellen (Abb. 22).

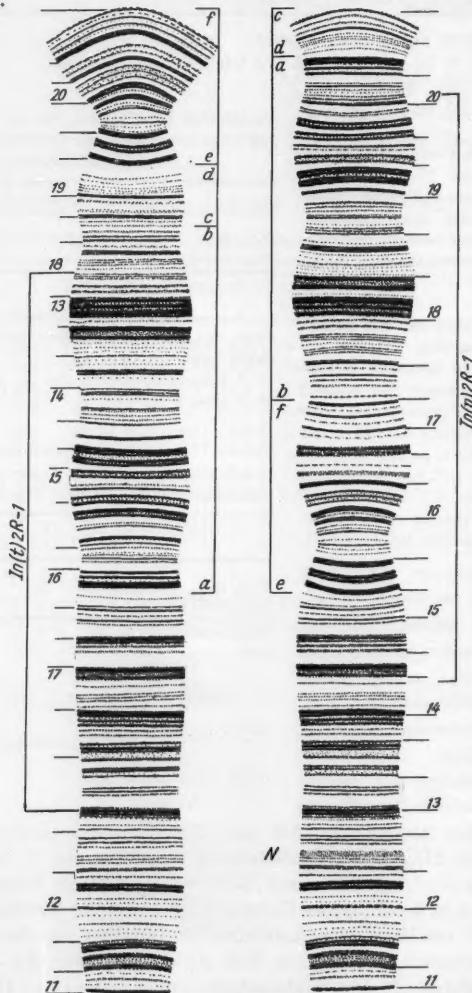


Abb. 20. Karte des Speicheldrüsen-Chromosomenarmes 2R, links von *C. tentans*, rechts von *C. pallidivittatus*. Die *tentans*-Karte ist als Inversionshomozygote *In(t)2R-1* dargestellt. N Nukleoinenbildungsort, sonst Anordnung und Beschriftung wie in Abb. 2.

Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)2R*—1. Bruchstellen: 12C und 17C/18A. Ist an allen Fundorten gleich häufig oder häufiger als die Standardanordnung.

Inversionen von *C. pallidivittatus*:

*In(p)2R*—1. Bruchstellen: 14A und 20A. Häufig in Plön.

e) Chromosom 3L. Nur eine einfache Inversion unterscheidet die Arten in diesem Chromosomenarm; die Bruchstellen liegen nach der Karte von *C. tentans* in den Abschnitten 5A und 9A (Abb. 23). Bei *C. pallidivittatus* ist die komplexe Inversion *In(p)3L-k1* (s. unten) weitaus häufiger als die Standardanordnung, so daß der Chromosomenarm 3L bei Bastard-Heterozygotie gewöhnlich eine komplizierte Paarungsanordnung zeigt (Abb. 25a) oder, bis auf einen kurzen Abschnitt, gänzlich ungepaart bleibt (Abb. 25b). Die Paarungskonfiguration *St(t)/St(p)* zeigt Abb. 24.

Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)3L*—1. Bruchstellen: 2A und 8C (vgl. Abb. 26). Häufig in Stockholm und vielleicht in Wien, selten in Oxford — fehlt in Plön.

*In(t)3L*—2. Bruchstellen: 2B und 8A. Häufig in Stockholm und Oxford; selten in Wien und Plön. Die Inversion ist leicht mit 3L—1 zu verwechseln (Abb. 26).

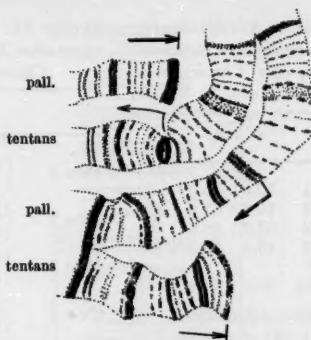


Abb. 21. Die Grenzen der interspezifischen terminalen Inversion im Chromosom 2R eines Bastards. Malpighigefäß-Präparat. 2600mal.

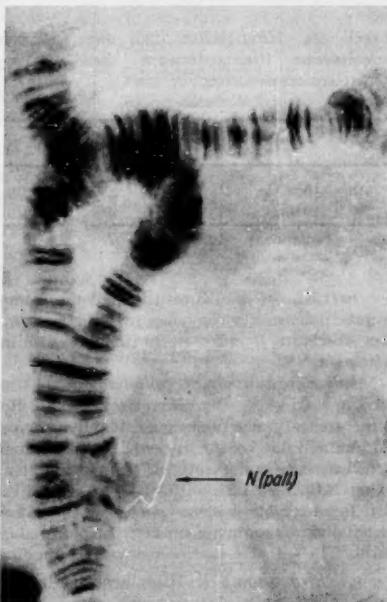


Abb. 22. Paarungskonfiguration des Chromosoms 2R im Artbastard bei Heterozygotie *In(t)2R*—1/*St(p)*. Heterozygoter, bei homologer Scheibenfolge nur am *pallidivittatus*-Chromosom gebildeter Nukleolus im Abschnitt 12. Speichelröhrenpräparat. 900mal.

Tabelle 8a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 2R von *C. tentans*.

	St	In-1	n
Plön 1	50,0	50,0	62
Plön 2	46,2	53,8	318
Plön 3	53,6	46,4	84
Plön 4	46,8	53,2	158
Stockholm	25,0	75,0	44

Homogenitätstest für  
Plön 1—4:  $\chi^2 = 1,64$ ; P = 0,67.

Unterschied zwischen  
Plön 1—4 und Stockholm:  
 $\chi^2 = 8,55$ ; P = 0,003.

Tabelle 9a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 2R von *C. pallidivittatus*.

	St	In-1	n
Plön 1934	84,4	15,6	38
Plön 1949/50	85,0	15,0	40
Zusammen	84,6	15,4	78

*In(t)3L—k1*. Die Konstitution dieses Komplexes ist nicht geklärt; bei Heterozygotie finden sich neben einer inversionsartigen Paarungskonfiguration im Bereich der Abschnitte 7 und 8 einige Inhomologien im Abschnitt 1. Nur einmal in Plön gefunden.

#### Inversionen von *C. pallidivittatus*:

*In(p)3L—k1*. Der Komplex ist aus 3 übergreifenden Inversionen gebildet. Bruchstellen (in der Reihenfolge der Inversionsschritte): 5B und 9B, 8B und 10A, 1B und 8B; die beiden Bruchstellen im Abschnitt 8B liegen um höchstens 3 Querscheiben voneinander entfernt. Die dislozierten Abschnitte bilden folgende Anordnung: 1B/8B—5B/9B—10A/8B—9B/5A—1B/8B (höchstens 3 Scheiben)/10A—. Bei Heterozygotie sind für gewöhnlich die Abschnitte 1B—5A und 5B—8B mit der Standardanordnung gepaart; es können auch andere Paarungsbilder auftreten (Abb. 27). — *In3L—k1* ist häufiger als die Standardanordnung.

) *Chromosom 3R*. Hier besteht der Unterschied zwischen den beiden Arten in 2 übergreifenden Inversionen (Abb. 28), deren Bruchstellen — nach der *tentans*-Chromosomenkarte und in der zur *pallidivittatus*-Standardanordnung überleitenden Reihenfolge — in den Abschnitten 13A (links von der auffälligen Doppelscheibe) und 16A bzw. in den

Tabelle 8b. Häufigkeiten (%) der verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen des Chromosomenarmes 2R von *C. tentans*.

	St	St	In-1	n	$\chi^2$	P
	St	In-1	In-1			
Plön 1	{ gef. erw.	19,3 25,0	61,4 50,0	19,3 25,0	31	1,64 0,46
Plön 2	{ gef. erw.	20,7 21,3	51,0 49,8	28,3 28,9	159	0,09 0,95
Plön 3	{ gef. erw.	40,5 28,7	26,2 49,8	33,3 21,5	42	9,2 0,01!
Plön 4	{ gef. erw.	24,1 22,9	45,6 49,8	30,3 28,3	79	0,44 0,80
Stockholm	{ gef. erw.	4,6 6,3	40,9 37,4	54,5 56,3	22	0,12! 0,72

<sup>1</sup> Nach Zusammenfassung der 2 homozygoten Klassen berechnet.

Tabelle 9b. Anzahlen der Individuen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen von *C. pallidivittatus* (2R).

	St	St	In-1	n
	St	In-1	In-1	
Plön 1934	13	6	0	19
Plön 1949/50	14	6	0	20
Zusammen	27	12	0	39
(erw.)	27,9	10,2	0,9)	

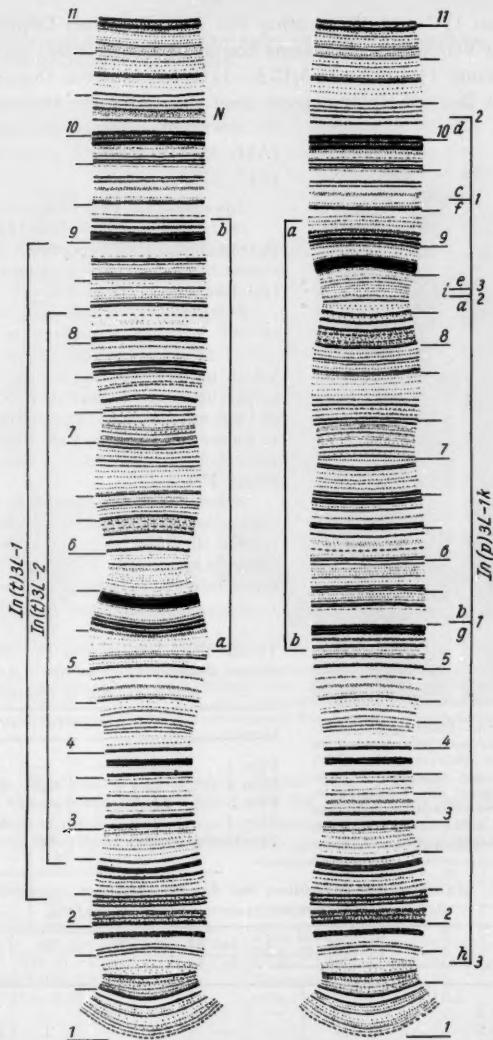


Abb. 23. Karte des Speicheldrüsen-Chromosomenarmes 3L, links von *C. tentans*, rechts von *C. pallidivittatus*. Anordnung und Beschriftung wie in Abb. 2; nur bei der komplexen Inversion  $In(p)3L-k1$  ist die veränderte Genanordnung noch zusätzlich durch Buchstaben verdeutlicht und die Bruchstellen der 3 Teillinversionen sind durch Ziffern markiert.

Abschnitten 11C und 13A (rechts von der genannten Doppelscheibe) liegen. Im Vergleich zu *C. tentans* besitzt *C. pallidivittatus* also hier die Genanordnung 11C/13A—16A/13A—11C/13A (nur die Doppelscheibe) /16A. Bei Bastard-Heterozygotie zeigt der Chromosomenarm 3R die zu erwartende Paarungskonfiguration (Abb. 25a) oder bleibt ganz ungepaart (Abb. 25b).

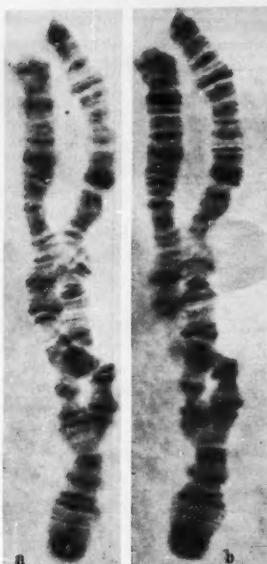


Abb. 24 a u. b. Paarungskonfiguration des gesamten Chromosoms 3 im Bastard, bei Heterozygotie *St(t)/St(p)* im linken Arm; in der Mitte des Chromosoms der heterozygote, nur am *tentans*-Chromosom gebildete Nukleolus. a tiefe, b hohe Einstellung. Speicheldrüsenträgerat. 800mal.

#### Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)3R-1*. Bruchstellen: 14A und 14C. Sehr häufig an allen Fundorten. Bei Heterozygotie bleibt diese kurze Inversion ungepaart (vgl. BEERMANN 1952a, Abb. 26).

*In(t)3R-k1*. Die äußere Begrenzung stimmt mit der vorgenannten Inversion 3R-1 überein. Innerhalb dieses Bereiches jedoch ist das Querscheibenmuster so weitgehend umgeordnet, daß seine Zurückführung auf die ursprüngliche Anordnung — etwa unter der Annahme weiterer Inversionen — unmöglich ist (Abb. 29). — Sehr selten in Plöner Material.

Neben den Inversionen ist in einem Fall eine geringfügige Strukturmutation im Abschnitt 16, nahe dem Chromosomenende beobachtet worden, an deren Entstehung wahrscheinlich unter anderem eine kurze Duplikation beteiligt war (Abb. 30).

Tabelle 10a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 3L von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>In-1</i>	<i>In-2</i>	<i>In-k1</i>	n
Plön 1 . . .	100,0	—	—	—	62
Plön 2 . . .	99,4	—	0,3	0,3	318
Plön 3 . . .	100,0	—	—	—	84
Plön 4 . . .	98,8	0,6	—	0,6	158
Stockholm	52,3	40,9	6,8	—	44

Tabelle 10b. Anzahlen der Individuen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen des Chromosomenarmes 3L von *C. tentans*.

	<i>St</i> <i>St</i>	<i>St</i> <i>In-1</i>	<i>In-1</i> <i>In-1</i>	<i>St</i> <i>In-2</i>	<i>In-1</i> <i>In-2</i>	<i>St</i> <i>In-k1</i>	n
Plön 1 . . . . .	31	—	—	—	—	—	31
Plön 2 . . . . .	157	—	—	1	—	1	159
Plön 3 . . . . .	42	—	—	—	—	—	42
Plön 4 . . . . .	77	1	—	—	—	1	79
Stockholm . . .	6	10	3	1	2	—	22
Stockholm erw.	6,0	9,4	3,7	1,6			

Inversionen von *C. pallidivittatus*:

Im Chromosomenarm 3R wurden außer der Standardanordnung noch keine anderen Genanordnungen aufgefunden.

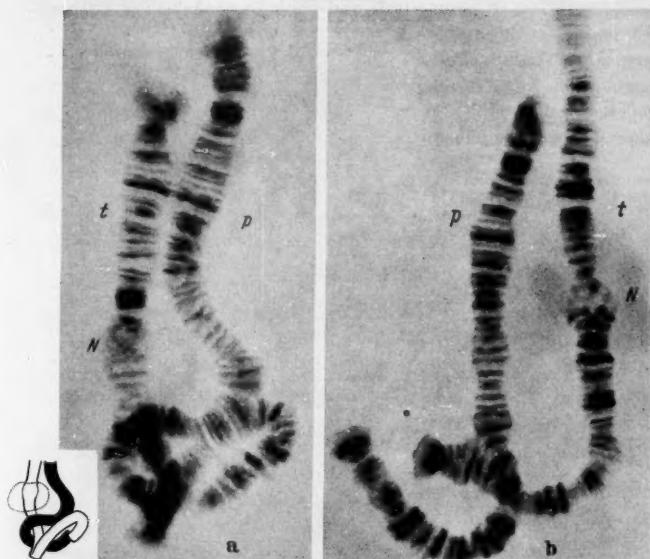


Abb. 25 a u. b. Paarungskonfigurationen des Chromosoms 3 in Bastard-Speicheldrüsen, bei Heterozygotie  $St(t)/In(p)3L-k1$  im linken Arm. Der Verlauf der Partner in a geht aus dem Schema hervor; in b sind nur die Abschnitte 2B—4A (tentans-Karte) gepaart. t *tentans*, p *pallidivittatus*, N Nukleolensort von *tentans*. Speicheldrüsenpräparate. 800mal.

Tabelle 11a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 3L von *C. pallidivittatus*.

	<i>St</i>	<i>In-1k</i>	n
Plön 1934	36,8	63,2	38
Plön 1949/50	22,5	77,5	40
Zusammen <sup>1</sup>	29,5	70,5	78

<sup>1</sup> Homogenitätstest:

$$\chi^2 = 1,92; P = 0,16.$$

Tabelle 11b. Anzahlen der Individuen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen des Chromosoms 3L von *C. pallidivittatus*.

	<i>St</i> <i>St</i>	<i>St</i> <i>In-1k</i>	<i>In-1k</i> <i>In-1k</i>	n
Plön 1934	3	8	8	19
Plön 1949/50	1	7	12	20
Zusammen	4	15	20	39
(erw. :)	3,4	16,3	19,3	

g) Chromosom 4. Es ist hier nicht gelungen, die Genanordnung von *C. pallidivittatus* vollständig auf die von *C. tentans* zurückzuführen. Die Homologisierung wird durch die geringe somatische Paarungstendenz

des 4. Chromosoms (BAUER und BEERMANN 1952a, BEERMANN 1952a) und seine Neigung zu verstärkter Spiralisierung in den Kernen der Malpighi-Gefäße erschwert. Die 1952 veröffentlichten 2 Karten des 4. Chromosoms von *C. tentans* (mit und ohne Darstellung der Balbiani-Ringe) sind zur Gegenüberstellung mit *C. pallidivittatus* zu einer einzigen Karte zusammengefaßt worden (Abb. 31). Um das Querscheibenmuster



Abb. 26.

Abb. 26. *C. tentans*; Chromosom 3L bei Heterozygotie *In(t)3L—1/In(t)3L—2* (eingeschlossene Inversionen, vgl. Abb. 23). Speicheldrüsenpräparat. 1100mal.

Abb. 27. *C. pallidivittatus*; Chromosom 3 bei Heterozygotie *St(p)/In(p)3L—k1* im linken Arm. Der Partner mit der Standardanordnung endet rechts unten. Meist ist die Paarungskonfiguration komplizierter als in dem abgebildeten Fall; bei näherer Betrachtung lassen sich größere Unterschiede in der Scheibenfolge der beiden Partner erkennen als sie nach der einfachen Paarungsfigur zunächst zu vermuten wären. 1000mal.

Tabelle 12a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosomenarmes 3R von *C. tentans*.

	<i>St</i>	<i>In—1</i>	<i>In—k1</i>	n
Plön 1 . . . . .	40,3	59,7	—	62
Plön 2 . . . . .	34,8	64,1	1,1	284
Plön 3 . . . . .	34,5	65,5	—	84
Plön 4 . . . . .	39,1	60,3	0,6	156
Stockholm . . . . .	50,0	50,0	—	44

Der Unterschied zwischen Plön 1—4 und Stockholm ist statistisch nicht gesichert:  $\chi^2 = 2,93$ ;  $P = 0,09$  (für *St* und *In—1* allein berechnet). Homogenitätstest Plön 1—4:  $\chi^2 = 1,25$ ;  $P = 0,75$ .



Abb. 27.

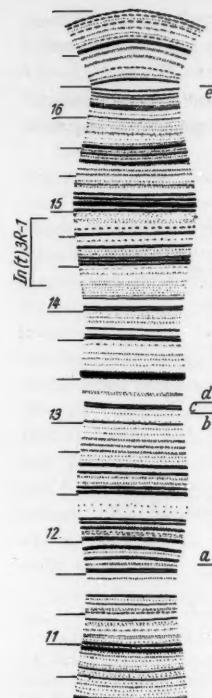


Abb. 28. Karten des Speicheldrüsen-Chromosomenarmes 3R, links von *C. tentans*, rechts von *C. pallidivittatus*. Anordnung und Beschriftung wie in Abb. 2.

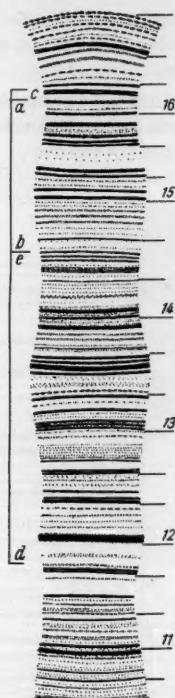


Abb. 29. *C. tentans*; kurze komplexe Veränderung der Genanordnung, *In(t) 3 R—k 1* (Partner links), heterozygot mit *St*. Speicheldrüsenträgerpräparat. 2100mal.

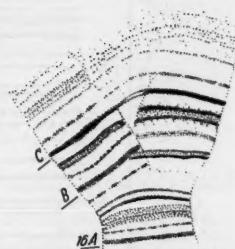


Abb. 30. *C. tentans*; kleine Strukturveränderung (Duplikation?) im Abschnitt 16 von 3R (Partner rechts), heterozygot mit *St*. Speicheldrüsenträgerpräparat. 2100mal.

Tabelle 12b. Häufigkeiten (%) der verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen des Chromosomenarmes 3R von *C. tentans*.

	$\frac{St}{St}$	$\frac{St}{In-I}$	$\frac{In-I}{In-I}$	$\frac{In-I}{In-k1}$	un-sicher	n	$\chi^2$	P
Plön 1	{gef. erw.	16,1 16,3	48,4 48,2	35,5 35,5	— —	— —	31	0,003 —
Plön 2	gef.	10,1	42,2	35,3	1,9	10,6	159	—
Plön 3	{gef. erw.	9,6 9,6	50,0 42,7	40,4 47,7	— —	— —	42	1,01 0,3
Plön 4 <sup>1</sup>	{gef. erw.	14,1 15,2	50,0 46,4	34,6 35,9	1,3 0,8	(—) <sup>1</sup> —	78	0,26 —
Stockholm	{gef. erw.	31,8 25,0	36,4 50,0	31,8 25,0	— —	— —	22	1,64 0,5

<sup>1</sup> Ein unsicherer Fall wurde fortgelassen, außerdem die Erwartungsklassen *St/In—k1* und *In—k1/In—k1*.  $\chi^2$  ist nur für *St* und *In—I* berechnet.

möglichst vollständig wiederzugeben, mußte die Aufspaltung des Chromosoms im Bereich des 2. Balbiani-Rings (s. unten) zeichnerisch auf ein Minimum reduziert werden.

Geht man von der am linken Chromosomenende vermuteten, durch eine dicke heterochromatische Querscheibe gekennzeichneten

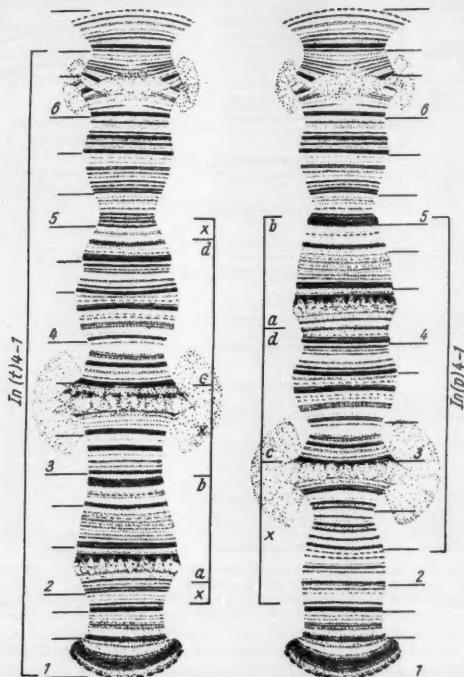


Abb. 31. Karten des Speicheldrüsenchromosoms 4, links von *C. tentans*, rechts von *C. pallidivittatus*, mit Darstellung des 2. und des 3. Balbiani-Ringes (BR2 und BR3 nach der *tentans*-Bezeichnung); der 1. Balbiani-Ring ist als schwache, vakuolierte Anschwellung dargestellt. Anordnung und Beschriftung sonst wie in Abb. 2.

Kinetochorregion aus, so lassen sich die folgenden Abschnitte des 4. Chromosoms von *C. tentans* im 4. Chromosom von *C. pallidivittatus* wiedererkennen: 1A—1C, 2A—2C, 3B—4C und 5A—6C. In welcher Weise die drei zwischen diesen liegenden, nicht homologisierbaren Abschnitte (Abb. 31, „x“) dabei noch unterteilt und zu dem *pallidivittatus*-Abschnitt 1C—2C zusammengefügt sind, bleibt ungewiß. Sicher unterscheiden sich die Genanordnungen der beiden Arten durch mehr

als 3 Inversionsstufe. Die identifizierten Abschnitte des *tentans*-Chromosoms liegen bei *C. pallidivittatus* in folgender Anordnung: 1A—1C/xxx/3B—4C/2A—2C/5A—6C. — Auf das Problem der Homologiebeziehungen der Balbiani-Ringe des 4. Speicheldrüsenchromosoms wird auf S. 234 und in der Diskussion, S. 253, eingegangen.

Die Paarungskonfigurationen des 4. Chromosoms bei Bastard-Heterozygotie, die an Stelle der meist gänzlich fehlenden lateralen Paarung homologer Abschnitte durch tandemartige terminale Vereinigung der Homologen im proximalen Heterochromatin zustande kommen, wurden in anderem Zusammenhang bereits beschrieben und abgebildet (BAUER und BEERMANN 1952a). Falls sich außerdem Teile der Abschnitte 5 und 6 regulär paaren, entstehen Konfigurationen, wie sie in Abb. 32 dargestellt sind.

#### Inversionen von *C. tentans*:

*In(t)4—1.* Bruchstellen in 1A (unmittelbar am vermutlichen Kinetochor) und in 6C. Häufig an allen Fundorten, in Oxford häufiger als die Standardanordnung. — Bei Heterozygotie ergibt sich eine charakteristische ringförmige Paarungskonfiguration (vgl. BAUER und BEERMANN 1952a).

#### Inversionen von *C. pallidivittatus*:

*In(p)4—1.* Bruchstellen in 2A und 5A. Die zweite Bruchstelle fällt praktisch mit der Stelle zusammen, welche die bei beiden Arten homologen Endabschnitte proximal begrenzt. Häufig in Plön.

#### Strukturelle Mikrovarianten des 4. Chromosoms von *C. tentans* und von *C. pallidivittatus*:

Neben den genannten, gewöhnlichen Inversionen sind nach genauer Durchsicht einiger besonders günstiger Präparate verschiedene geringfügige Strukturmutationen erkannt worden, über deren Natur noch keine sicheren Aussagen gemacht werden können. Zum Teil handelt es sich dabei um Veränderungen in der Ausprägung einzelner Querscheiben bzw. Querscheibengruppen; so treten bei *C. tentans* im Abschnitt 5A zwei bei Heterozygotie deutlich verschiedene Varianten der

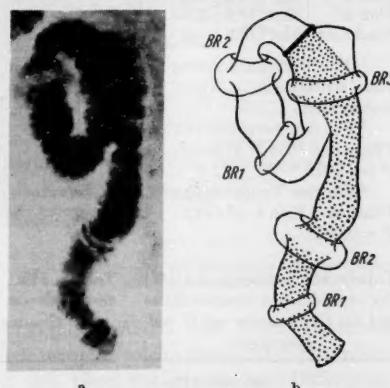


Abb. 32 a u. b. Paarungskonfiguration des Chromosoms 4 im Arbastard, bei Heterozygotie *In(t)4—1/p* und Paarung der Abschnitte 5 und 6. In b sind der Verlauf der Partner und die Lage der Balbiani-Ringe dargestellt; der invertierte *tentans*-Partner ist punktiert, die terminale Vereinigungsstelle im kinetochornahen Heterochromatin als dicke schwarze Querscheibe gekennzeichnet.  
Speicheldrüsenpräparat. 1000mal.

Tabelle 13a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosoms 4 von *C. tentans*<sup>1</sup>.

	St	In-1	n
Plön 1 <sup>2</sup>	85,6	14,4	62
Plön 2 <sup>2,3</sup>	68,7	31,3	318
Plön 3	75,0	25,0	84
Plön 4 <sup>3</sup>	80,5	19,5	158
Stockholm	84,0	16,0	44

<sup>1</sup> Ohne Berücksichtigung von strukturellen Kleinmutationen.

<sup>2</sup> Für den Vergleich von Plön 1 und Plön 2:  $\chi^2 = 7,3$ ;  $P = 0,007$ .

<sup>3</sup> Für den Vergleich von Plön 2 und Plön 4:  $\chi^2 = 7,1$ ;  $P = 0,007$ .

Tabelle 14a. Häufigkeiten (%) der verschiedenen Genanordnungen des Chromosoms 4 von *C. pallidivittatus*.

	St	In-1	n
Plön 1934	42,2	57,8	38
Plön 1949/50	35,0	65,0	40
Zusammen	38,4	61,6	78

Homogenitätstest:  $\chi^2 = 0,41$ ;  $P = 0,68$ .

Tabelle 13b. Häufigkeiten (%) der verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen des Chromosoms 4 von *C. tentans*.

	St St	St In-1	In-1 In-1	n	$\chi^2$ <sup>1</sup>	P
Plön 1	{ gef. erw.	74,2 72,2	22,6 24,8	3,2 1,0	31	0,66 0,4
Plön 2	{ gef. erw.	46,5 47,0	44,1 43,2	9,4 9,8	159	0,06 0,8
Plön 3	{ gef. erw.	57,0 56,2	35,8 37,5	7,2 6,3	42	0,57 0,45
Plön 4	{ gef. erw.	65,7 64,8	29,2 31,4	5,1 3,8	79	0,22 0,65
Stock- holm	{ gef. erw.	68,2 70,6	31,8 28,9	0 0,5	22	0,28 0,6

<sup>1</sup> Berechnet nach Zusammenfassung der 2 homozygoten Klassen.

Tabelle 14b. Anzahlen der Individuen mit den verschiedenen zygotischen Kombinationen der Genanordnungen des Chromosoms 4 von *C. pallidivittatus*.

	St St	St In-1	In-1 In-1	n
Plön 1934	2	12	5	19
Plön 1949/50	2	10	8	20
Zusammen	{ gef. <sup>1</sup> erw. <sup>1</sup>	4 5,7	22 18,5	13 14,8

<sup>1</sup>  $\chi^2 = 1,39$ ;  $P = 0,52$ .

Normalausprägung der 4 ersten Scheiben auf (Abb. 33 und 34); Mutationen ähnlichen Charakters scheinen auch an anderen Stellen des Chromosoms vorzukommen (Abb. 33 und 35). Bei Bastard-Heterozygotie war außerdem in einigen Fällen ein Unterschied in der Ausprägung des Abschnitts 3C (= Abschnitt 3A von *pallidivittatus*) festzustellen. In der Populationsstatistik (Tabelle 2 bis 14) können die Mikrovarianten auf Grund der Identifizierungsschwierigkeiten vorläufig nicht berücksichtigt werden.

### 3. Strukturmodifikationen und Nukleolen.

a) Strukturmodifikationen. Als Strukturmodifikationen werden alle unilokal entstehenden Veränderungen der Normalstruktur des Riesenchromosoms bezeichnet, deren Auftreten an die Funktion eines bestimmten Organes oder Organbezirks und außerdem an den physio-

logischen Entwicklungszustand des Gesamtorganismus gebunden ist (BEERMANN 1952a, b; MECHELKE 1953; PAVAN 1953<sup>1</sup>). Für die Frage nach den Kausalbeziehungen solcher Strukturmodifikationen zu der Funktion der strukturell modifizierten Loci könnten vergleichende

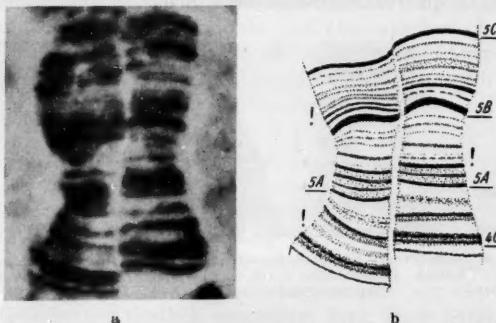


Abb. 33 a u. b. *C. tentans*; Chromosom 4. Strukturelle Kleinmutationen in den Abschnitten 4C—5B. Inhomogenitäten in b mit „!“ markiert. Speicheldrüsenträgerpräparat. 1600 mal.

Untersuchungen an nahe verwandten Arten und ihren Bastarden unter Umständen aufschlußreich werden; solche Beobachtungen sollten auch gewisse Annahmen über den Grad der genetischen Differenzierung der Arten ermöglichen. Im Rahmen dieser Arbeit, die in erster Linie die Herausstellung der cytologisch konstanten Artunterschiede zum Ziele hatte, werden hier nur einige vorläufige Beobachtungen über Strukturmodifikationen mitgeteilt.

Die auffälligsten Strukturmodifikationen sind die Balbiani-Ringe der Speicheldrüsenchromosomen. Sie treten am 4. Chromosom von *C. tentans* und von *C. pallidivittatus* jeweils in der Dreizahl auf. Einer der beiden „großen“ Balbiani-Ringe („BR 1“; BEERMANN 1952a) wird in der Natur meistens nicht voll ausgebildet, ist aber auch nach Aufzucht der Larven im Labor stark variabel; der andere dagegen („BR 2“) wird sowohl bei Tieren, die im Labor, als auch bei Larven, die am natürlichen Standort aufgewachsen sind, stets maximal entwickelt. Das Auftreten von morphologischen Zwischenstufen, angefangen vom gänzlichen Fehlen dieser Strukturmodifikationen bis zu ihrer größtmöglichen Entfaltung, hat es ermöglicht, für beide



Abb. 34. *C. tentans*; Chromosom 4. Strukturelle Kleinmutation im Abschnitt 5A (vgl. Abb. 33 b). Speicheldrüsenträgerpräparat. 2100 mal.

<sup>1</sup> Persönliche Mitteilung.

großen Balbiani-Ringe, sowohl von *C. tentans* (BEERMANN 1952a) als auch von *C. pallidivittatus* (s. unten), den Ort ihres Ursprungs nahezu bis auf die Querscheibe genau anzugeben. Im Fall des kleineren 3. Balbianiringes steht die exakte Lokalisierung noch aus. Es war in erster Linie zu prüfen, ob die Balbiani-Ringe des 4. Speicheldrüsenchromosoms bei

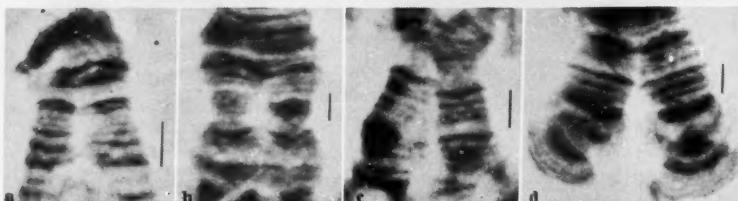


Abb. 35 a—d. Strukturelle Kleinmutationen im Chromosom 4. a, c *C. pallidivittatus*, b, d *C. tentans*. Inhomogenitäten durch Striche markiert. Zu b vgl. Abb. 34.  
Speicheldrüsenträpparate. 1800mal.

beiden Arten an homologen Loci gebildet werden. Für den kleinen (3.) Balbiani-Ring im Abschnitt 6 kann diese Frage ohne Schwierigkeit entschieden werden; die Homologie ergibt sich aus der gelegentlichen Paarung der Abschnitte 5—6 bei Artbastarden (Abb. 32). Auch der

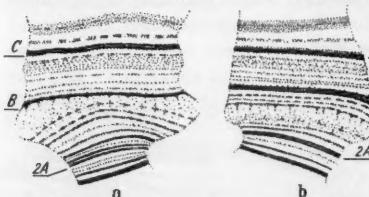


Abb. 36 a u. b. *C. tentans*; Chromosom 4. Entstehungszone des 1. Balbiani-Ringes (BR1) bei eben beginnender Ausprägung einer Strukturmodifikation. Der Balbiani-„Locus“ kann entweder in der in a oder in der in b dargestellten Anschwellung liegen; die in b gezeigte Stelle ist bisher als der eigentliche Entstehungsort des BR1 angesehen worden. Speicheldrüsenträpparate. 2000mal.

gaben (BEERMANN 1952a) — vorerst unbestimmt, nachdem es sich herausgestellt hat, daß neben der damals angenommenen Bildungsstelle eine weitere, nur um 3 Querscheiben davon entfernte Zone ebenfalls zum Ausgangspunkt von Anschwellungen — den morphologischen Vorstufen der Balbiani-Ringe — werden kann (Abb. 36). Diese Situation findet sich bei *C. pallidivittatus* ebenso wie bei *C. tentans*.

Der zweite, im Gegensatz zum ersten konstante, große Balbiani-Ring („BR 2“) liegt nicht in interspezifisch eindeutig homologisierbaren

großen, variable Balbiani-Ring („BR 1“) von *C. tentans* und der in dem homologen Abschnitt liegende Balbiani-Ring des 4. Chromosoms von *C. pallidivittatus* bzw. die ihm entsprechenden Auflockерungs- oder Anschwellungszonen, sind sicher miteinander homolog; sie entstehen im Bereich homologer Querscheiben. Die exakte Lokalisierung des „BR 1“ bleibt

— entgegen den früheren An-

Bereichen. Bei *C. pallidivittatus* schließen sich zwar in distaler Richtung die gleichen Querscheibengruppen an wie bei *C. tentans*, doch ist in proximaler Richtung eine Identifizierung der Querscheiben unmöglich; in diese nicht mehr zu homologisierenden Zonen fällt wahrscheinlich auch die eigentliche Bildungsstelle des Balbiani-Ringes. Auf Homologie kann daher vorerst nur indirekt, und zwar aus dem übereinstimmenden Verhalten des *tentans*- und des *pallidivittatus*-Balbiani-Ringes geschlossen werden, wenn beide im gleichen Zellkern den gleichen physiologischen Bedingungen unterworfen sind; dies ist bei Artbastarden der Fall.

Neben den Balbiani-Ringen ist für zwei lagemäßig homologe, einfache Anschwellungen („puffs“) gleichartiges Verhalten festgestellt worden: Es sind dies eine in den Speicheldrüsenkernen der Vorpuppen zu beobachtende diffuse Anschwellung im Abschnitt 18C des 1. Chromosoms und eine große diffuse Anschwellung im Abschnitt 9B des 3. Chromosoms von Puppen und Vorpuppen, die vor allem in den Malpighi-Gefäßkernen deutlich ausgebildet wird. Beide Strukturmodifikationen gehören zur Klasse der erst bei Einsetzen der Metamorphose auftretenden Veränderungen (vgl. BEERMANN 1952a). Sie werden regelmäßig bei beiden Arten und auch im Bastard gefunden.

b) *Nukleolen*. Unter den ihre physiologische Aktivität sichtbar manifestierenden Loci der Riesenchromosomen nehmen die Nukleolusbildungsorte eine Sonderstellung ein. Ihre spezifischen „Stoffwechselprodukte“ diffundieren nicht unsichtbar in den Kernsaft und das Cytoplasma hinaus, sondern akkumulieren sich am Orte ihrer Bildung als Nukleolen<sup>1</sup>. Nukleolen treten in allen Zellen des Individuums und stets an den gleichen Chromosomenstellen auf. Diese Orte selbst können in den polytänen Chromosomen in verschiedenem Grade strukturell modifiziert sein, unter Umständen sogar Balbiani-Ringe bilden (BEERMANN 1952a).

Nukleolen werden bei *C. tentans* an je einer Stelle im 2. und im 3. Chromosom gebildet; die Lage dieser Stellen läßt sich exakt definieren (BEERMANN 1952a). Außerdem kann ein seinem Aussehen nach deutlich von den beiden Hauptnukleolen unterschiedener und mit ihnen niemals verschmelzender akzessorischer Nukleolus terminal am Abschnitt 6C des 4. Chromosoms auftreten; dieser Nukleolus wurde in den Speicheldrüsen-, Malpighigefäß- und Mitteldarmkernen einzelner Larven von *C. tentans* beobachtet.

<sup>1</sup> Der formale Einwand, daß die Nukleolarsubstanzen nicht notwendigerweise am „nucleolar organizer“ zu entstehen brauchten, ist unberechtigt; eine bloße Akkumulationsfunktion ohne chemischen Eingriff ist im submikroskopischen Bereich nicht denkbar. Formal muß man den Nukleolus als spezifisches „Genprodukt“ des organizer auffassen.

Im Chromosomenbestand von *C. pallidivittatus* gibt es nur einen Nukleolenbildungsort; er liegt im Chromosomenarm 2R. Da die 2 Nukleolen von *C. tentans* am Chromosom 2L und am Chromosom 3L gebildet werden, muß man prüfen, ob der Unterschied zwischen den beiden Arten durch gewöhnliche Chromosomenmutationen, also Verlagerung oder Duplikation bzw. deficiency der Bildungsorte erklärt werden kann. Für das 3. Chromosom ist dies leicht zu entscheiden: Das Querscheibenmuster des Abschnitts 10A von *C. pallidivittatus*



Abb. 37.



Abb. 38.

Abb. 37. Abschnitt 12 des Chromosoms 2R im Artbastard mit dem Nukleolenbildungsort von *C. pallidivittatus* (der Nukleolus selbst ist nicht mit eingezzeichnet). Heterozygotie nur im Nukleolen-„Locus“, nicht in der Anordnung der Querscheiben. Malpighigefäß-Präparat. 2500mal.

Abb. 38. Der Nukleolenbildungsort im Chromosom 2L von *C. tentans* bei Heterozygotie im Artbastard: An der homologen Stelle des *pallidivittatus*-Partners wird kein Nukleolus gebildet. Malpighigefäß-Präparat. 2500mal.

weist gegenüber dem Abschnitt 10A von *C. tentans* keine Lücke auf (Abb. 23 und 24); es fehlt lediglich die für Nukleolenstellen charakteristische diffuse Färbung und leichte Vakuolisierung (vgl. BEERMANN 1952a und Abb. 37 und 38). Um eine Chromosomenmutation handelt es sich also nicht. Der Unterschied in der Fähigkeit zur Nukleolenbildung erhält sich auch bei Heterozygotie im Artbastard (Abb. 24, 25); niemals ist in den Zellkernen der  $F_1$ -Bastarde oder ihrer Nachkommen die Ausbildung eines Nukleolus am 3. Chromosom von *C. pallidivittatus* beobachtet worden. Das gleiche gilt für die Nukleolenverhältnisse im Chromosom 2, wo beide Arten einen Nukleolus ausbilden. Der Abschnitt 12, welcher den Nukleolenbildungsort von *C. pallidivittatus* einschließt, ist bei Heterozygotie im Artbastard vollständig gepaart,

wenn der *tentans*-Partner die Inversion In(t)2R—1 enthält (Abb. 22). Dabei ist kein Unterschied in der Zahl und Anordnung der Querscheiben festzustellen; nur am Nukleolenbildungsort selbst tritt die bereits erwähnte Vakuolisierung auf (Abb. 37). Im Bereich der *tentans*-Nukleolenstelle im linken Arm des Chromosoms 2 paaren sich die Bastardchromosomen nicht; doch läßt ein Vergleich des Querscheibenmusters (Abb. 38) auch hier erkennen, daß ein Unterschied wiederum nur in der Struktur des Locus, nicht aber in seiner relativen Lage besteht. Bei Heterozygotie im Artbastard erhalten sich die genannten Unterschiede im 2. Chromosom ebenso wie im 3. Chromosom. Es muß sich also um Mutationen der Nukleolenbildungsstellen selbst handeln, die zu den Artunterschieden geführt haben.

#### D. Diskussion.

##### 1. Die Bastardierungsergebnisse.

Die erste Chironomidenkreuzung hat E. GOLDSCHMIDT (1942) durchgeführt; ♀♀ eines nicht näher bestimmten Stammes „A“ legten bei Massenkreuzung mit ♂♂ eines Stammes anderer geographischer Herkunft, „B“, regelmäßig befruchtete Eier ab. Vitalität und Fertilität der  $F_1$  waren nicht geschwächt, obwohl die cytologischen Befunde einen größeren als nur einen Rassenunterschied zwischen den beiden Stämmen vermuten ließen. Im Gegensatz zu diesem Fall steht bei der Kreuzung von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* der Speziesrang der Elternformen fest. An den verschiedenen europäischen und nordamerikanischen Fundorten unterscheiden sich diese Arten in den gleichen morphologischen Merkmalen, und die Unterschiede gehen weit über den Rahmen der intraspezifischen Variabilität hinaus. Ähnliches gilt für die Chromosomenstruktur.

Da *C. tentans* und *C. pallidivittatus* in der Natur vielfach am gleichen Biotop auftreten, also sympatrische Arten darstellen, besitzt die Frage nach den Isolationsmechanismen besonderes Interesse. Daß eine wirksame Isolation besteht, ergibt sich aus der Seltenheit natürlicher Bastarde oder ihrer Nachkommen. In der Plöner Mischpopulation der beiden Arten wurde neben 232 Larven von *C. tentans* und 39 Larven von *C. pallidivittatus* 1 Bastardlarve entdeckt. In Oxford hat ACTON (persönliche Mitteilung) 1036 *Camptochironomus*-Larven, davon etwa 4% *C. pallidivittatus* untersucht und nur 1 Bastardlarve gefunden; die Chromosomenkonstitution einer weiteren Larve deutete auf einen mehreren Generationen zurückliegenden Fall von Bastardierung hin. Natürliche Dipteren-Bastarde sind übrigens erst einmal beschrieben worden: PATTERSON (nach PATTERSON und STONE 1952) fand  $F_1$ -♂♂ von *Drosophila mulleri*  $\times$  *D. aldrichi*.

Aus dem Bau der Hypopygien der ♂♂ und aus dem Verhalten der Imagines bei Kreuzungsexperimenten ergibt sich als wesentlicher Faktor der sexuellen Isolation bei *Camptochironomus* die Verhinderung bzw. Erschwerung der Kopulation durch Unterschiede in der Struktur der äußeren Genitalorgane. In der Natur dürften daneben bereits der Einleitung der Paarung wirksame Schranken gesetzt sein. Es kann angenommen werden, daß dort, wo beide Spezies gemeinsam auftreten, ihre Schwärmezeiten für gewöhnlich nicht koinzidieren — die Entwicklungszzyklen sind nachgewiesenermaßen von verschiedener Dauer, und sicher wirken auch feinere ethologische Faktoren an der Verhinderung von Irrtümern bei der Gattungswahl mit; es sei dabei an die im Experiment häufig zu beobachtende Paarungsunlust erinnert. Die Bedeutung des Paarungsverhaltens für die sexuelle Isolation der *Drosophila*-Arten ist schon lange bekannt (STURTEVANT 1920) und seitdem in zahlreichen Arbeiten eingehend untersucht worden (vgl. PATTERSON und STONE 1952, S. 312ff.); dabei sind es vielfach auch die ♀♀, die bei Wahlversuchen die Fähigkeit zur Diskrimination zugunsten homogamer Paarung zeigen. Bei *Chironomus* ist es bislang noch nicht gelückt, durch Betäubung der ♀♀ eine höhere Anzahl fruchtbare Kreuzungen zu erzielen. Auf der anderen Seite kann bei *Drosophila*-Artkreuzungen der „mechanischen“ Isolation eine entscheidende Rolle nicht zugeschrieben werden (PATTERSON und STONE, l. c.) — obwohl HSU (1949) in einer eingehenden Untersuchung auf die zahlreichen Unterschiede im Bau der männlichen Genitalien in der Gattung *Drosophila* aufmerksam gemacht hat.

Die anatomisch bedingten interspezifischen Paarungsschwierigkeiten verhindern es wahrscheinlich in den meisten Fällen, daß in die Geschlechtswege des ♀ Spermien gelangen; diese Auffassung ist für die Elternkombination *tentans*-♀ × *pallidivittatus*-♂ bereits bewiesen, darf aber nach dem grundsätzlich gleichartigen Ausfall der Paarungsexperimente auch für die reziproke Kreuzung als zutreffend gelten. Falls Spermien übertragen werden, so ist damit zu rechnen, daß ihre Anzahl unter dem Normalwert liegt; abgesehen von den mechanischen Faktoren, die eine ungestörte Ejakulation erschweren würden, könnten Abwehrreaktionen des ♀ zur vorzeitigen Unterbrechung der Begattung führen. Damit wäre zumindest zu einem wesentlichen Teil die Frage geklärt, weshalb bei den wenigen gelückten Artkreuzungen stets ein so ungewöhnlich hoher Prozentsatz der Eier unbefruchtet blieb (vgl. S. 205). Zur weiteren Deutung dieses Befundes käme in erster Linie die Annahme einer Inaktivierung der artfremden Spermien in Frage; die Beobachtung, daß in den Spermatheken bzw. der Vagina der P-♀ noch Spermienbündel gefunden wurden, nachdem die zu einem großen Teil unbefruchteten Eier bereits abgelegt waren, weist

vielleicht in diese Richtung. Das entsprechende Phänomen ist als „gametic mortality“ von *Drosophila*-Kreuzungen bekannt, z. B. bei *D. virilis* × *D. americana* (PATTERSON, STONE und GRIFFEN 1942).

In der Isolation der Chironomus-Arten spielt die sonst bei Dipteren (*Drosophila*: Zusammenfassung bei PATTERSON und STONE 1952, *Sciara*: METZ und LAWRENCE 1938, *Anopheles*: DE BUCK und Mitarbeiter 1934, *Culex*: LAVEN 1952) und überhaupt bei allen Organismen weit verbreitete Erscheinung der Herabsetzung der zygotischen Vitalität und Fertilität, die sich in erster Linie im heterogametischen Geschlecht auswirkt (HALDANE 1922), keine Rolle. Da jedes *Chironomus*-Gelege 1000—2000 Eier enthält, deren Embryonalentwicklung in jeder Phase im Leben verfolgt werden kann, lassen sich über die Fertilität völlig zuverlässige Aussagen machen; im einzelnen wird darüber an anderer Stelle berichtet werden — hier sei nur darauf verwiesen, daß sich bei Rückkreuzungen und in der  $F_2$  im Durchschnitt etwa 80—90% der Eier normal entwickeln. Die praktisch uneingeschränkte Fruchtbarkeit der Bastarde von *Chironomus*, über die ja auch E. GOLDSCHMIDT (1942) berichtet, hat unter den 101 von PATTERSON und STONE (1952) registrierten *Drosophila*-Artkreuzungen, die  $F_1$ -Nachkommen lieferten, keine Parallele, mit Ausnahme vielleicht einzelner Kreuzungen von Subspezies bzw. „sibling species“ wie *D. melanica*, *paramelanica* und *nigromelanica* (GRIFFEN 1942), oder *D. bocainensis* und *D. parabocainensis* (CARSON 1954).

WHITE (1948, S. 397) hat — einem Gedanken von STURTEVANT (1938) folgend — dem durch die Verhältnisse im Genus *Drosophila* verkörperten Weg der Artentrennung jenen gegenübergestellt, welcher nicht von der Herausbildung genetischer Unverträglichkeit zwischen partiell isolierten Populationen, sondern zunächst allein von der Entwicklung einer starken sexuellen Isolation seinen Ausgang nimmt (hierzu ist wohl auch eine wirksame geographische Isolation die Voraussetzung). In der Gattung *Chironomus* scheint vorzugsweise der zweite Weg eingeschlagen zu werden, möglicherweise sogar bei weiteren Chironomiden; die Ergebnisse von FOOT und STROBELL (1913), von COUSIN (1941) und von SHULL (1946) zeigen, daß ähnliches auch in der Artbildung von Hemipteren, Orthopteren und Coleopteren vorkommt. Die Sterilität der  $F_1$ -♂♂ von *Drosophila*-Kreuzungen beruht darauf, daß das polyfaktorielle genetische Gleichgewicht zwischen X und Autosomen, möglicherweise auch zwischen X und Y (geographische Rassen von *D. micromelanica*, STURTEVANT und NOVITSKI 1941), gestört ist, wie es die Untersuchungen an den Bastarden von *D. pseudobscura* × *D. persimilis* (DOBZHANSKY 1936) und von *D. melanogaster* × *D. simulans* (MÜLLER und PONTECORVO 1942) gezeigt haben. Wenn bei anderen Organismen eine solche genetische Inkompatibilität zwischen

den Arten nicht zustande kommt, so kann das in ihrer andersartigen genetischen Organisation begründet liegen. Die Chironomiden sind cytogenetisch durch zwei Hauptmerkmale ausgezeichnet: erstens durch das Fehlen jeglicher morphologisch differenzierter Geschlechtschromosomen bzw. -chromosomenabschnitte und zweitens durch den ausgeprägten Chromosomenpolymorphismus der meisten Arten (Abschnitt 3); die erste Eigenschaft haben sie mit den untersuchten Culiciden, die zweite mit den Drosophiliden gemeinsam. Die Kreuzung von Organismen, deren Genome nicht auf die Einhaltung zweier verschiedener polyfaktorieller Gleichgewichte in den beiden Geschlechtern, andererseits aber auf extreme Heterozygotie eingestellt sind, hat wahrscheinlich größere Aussichten, eine auch im heterogametischen Geschlecht fertile  $F_1$  zu liefern. Weitere Artkreuzungsversuche an Chironomiden müssen zeigen, ob diese Vermutung zutrifft.

Ein allein auf paarungsanatomischer Grundlage aufbauender Isolationsmechanismus kann den Genaustausch nur so lange verhindern, wie  $F_1$ -Individuen mit intermediären Eigenschaften nicht auftreten. Diese Feststellung wird dadurch belegt, daß die *Camptochironomus*-Bastard-♂♂ und -♀♀ im Gegensatz zu ihren Eltern ohne Schwierigkeiten nicht nur inter se, sondern auch mit Partnern der beiden reinen Arten kopulieren, so wie es auch nach dem Bau ihres Genitalapparats zu erwarten ist. Die intermediäre Stellung der Bastarde ist im Einklang mit den zahlreichen Fällen von Bastardierung im Tier- und Pflanzenreich (Zusammenfassung bei RENNER 1929 und P. HERTWIG 1936).

## 2. Die Evolution der Chromosomenstruktur in der Differenzierung der beiden Arten.

Die intra- und interspezifische Differenzierung der Chromosomen in der Gattung *Camptochironomus* wird durch den Mutationstyp der parakinetischen Inversion bestimmt. Dieser Befund war zu erwarten, obwohl bei Chironomiden das Vorkommen von crossing-over in der Spermatogenese die Möglichkeit einer Fertilitätsminderung der heterozygoten ♂♂ in sich schließt. Wie STURTEVANT und BEADLE (1936) in genetischen Experimenten gezeigt haben und wie es CARSON (1946) bei *Sciara* zytologisch demonstriert konnte, gelangen die Produkte einfachen Austauschs im Bereich heterozygoter Inversionen — Chromatidenbrücken und -fragmente — bei der Eireifung der Dipteren nicht in den weiblichen Vorkern, so daß die Fertilität im weiblichen Geschlechts nicht beeinträchtigt ist. Transkinetische Inversionen und Translokationen dagegen, die entstehungsmäßig zwar keineswegs benachteiligt sind, haben wesentlich geringere Chancen, sich in der Evolution durchzusetzen, weil sie bei Heterozygotie nicht nur im männlichen, sondern auch im weiblichen Geschlecht die Fertilität durch Bildung aneuploider

Gameten beträchtlich mindern. Eine Ausnahme davon machen bekanntlich (z. B. MÜLLER 1940) Translokationen ganzer Chromosomenarme, die zur Fusion zweier telokinetischer Chromosomen in den Kinetochorregionen bzw. — durch reziproken Armaustausch mit einem sehr kurzen Chromosom — zum Zerfall eines V-förmigen in 2 stabförmige Chromosomen führen. Hier ist eine stärkere Herabsetzung der Fertilität der Heterozygoten nicht zu erwarten; Chromosomenfusionen haben daher Anteil am intraspezifischen Polymorphismus einiger Organismen, z. B. Heuschrecken (vgl. etwa MCCLUNG 1917) und Gastropoden (STAIGER 1954). STONE (1949) hat zudem bewiesen, daß  $F_1$ -♀♂ einer *Drosophila*-Kreuzung bei Heterozygotie für eine Chromosomenfusion (X-4) ebenso fertil sind wie die homozygoten Elternformen. Diesem Typ der Chromosomenmutation, der in der Gattung *Drosophila* so vielfache Abänderungen des mitotischen Karyotypus hervorruft (STONE und GRIFFEN 1940), kommt jedoch bei den Chironomiden kaum eine größere Bedeutung zu<sup>1</sup>: Innerhalb der einzelnen Chironomiden-Gattungen und sogar ganzer Unterfamilien finden sich fast ausnahmslos die gleichen Chromosomenzahlen und Schenkelkombinationen, so in der Gattung *Chironomus* 3 V-förmige und 1 kurzes stabförmiges Chromosom im haploiden Satz (BAUER 1936, 1945). Dies mag unter anderem daran liegen, daß das Heterochromatin im Bereich der Kinetochore im allgemeinen nur spärlich ausgebildet ist. Bei sehr vielen Arten, die haploid 3 etwa gleichlange Chromosomen besitzen, von denen höchstens eines stabförmig ist (viele Orthocladiinen) bzw. zu welchen sich nur noch ein kurzes stabförmiges Element gesellt (Chironominen), besteht ohnehin nicht unmittelbar die Möglichkeit zu Fusionen. Ein anderer selektiv wenig benachteiligter Typus der „totalen“ Translokation, die terminale Anheftung eines stabförmigen an ein zweites stab- oder V-förmiges Chromosom, hat sich bei Chironomiden nachweisen lassen: Bei einer Art der Gattung *Sergentia* (BAUER 1945) und einer unbestimmten *Chironomus*-Art (BAUER, persönliche Mitteilung, und eigene Beobachtungen) ist das sonst selbständige, an seinem abweichenden Bau und Verhalten leicht erkennbare kurze 4. Chromosom an eines der langen transloziert.

Bei näherer Betrachtung der einzelnen Inversionsschritte, welche die chromosomale Differenzierung der beiden *Camptochironomus*-Arten herbeigeführt haben, erhebt sich zunächst die Frage nach ihrer phylogenetischen Beziehung zu den zahlreichen verschiedenen intraspezifischen Genanordnungen. Wie es sich aus den Befunden dieser Arbeit ergibt, sind sowohl *C. tentans* als auch *C. pallidivittatus* Arten mit extrem ausgeprägtem Chromosomenpolymorphismus, und die Definition von Standardanordnungen bleibt großteils Sache der Willkür,

<sup>1</sup> Abgesehen vielleicht von den Tanypodinen (BAUER, persönliche Mitteilung).

auch wenn man dabei die relative Häufigkeit der Inversionen zugrunde legt: Bei *C. tentans* z. B. sind die beiden Anordnungen des Chromosomenarmes 2R in allen untersuchten Populationen etwa gleich häufig, und im Chromosomenarm 2L wie auch im 4. Chromosom (Tabelle 6a u. S. 233) können sich sogar die Häufigkeitsverhältnisse der zwei jeweils wichtigsten Genanordnungen von Population zu Population völlig umkehren; ähnliches ist bei *C. pallidivittatus* zu beobachten und gilt prinzipiell für alle Chromosomenarme. Es erweist sich in dieser Situation als beste Lösung, die Chromosomenstammbäume der beiden Arten bei jenen Anordnungen beginnen zu lassen, die sich interspezifisch durch die geringste Anzahl von einfachen Inversionsschritten voneinander unterscheiden, so wie es in dem bekannten Stammbaumschema der Inversionen von *Drosophila pseudoobscura* und *D. persimilis* (DOBZHANSKY 1944) zum ersten Male durchgeführt wurde. Stammbaumschemata dieser Art dürfen nicht darüber hinwegtäuschen, daß sie nur ein Bild der phylogenetischen Verknüpfung der Inversionen, nicht aber Auskunft auf die Frage liefern, welche Genanordnung in Wahrheit die ursprüngliche ist. Wenn z. B. beide *Camptochironomus*-Arten in den Chromosomenarmen 1R und 3R je eine Genanordnung gemeinsam besitzen, so ist das zwar ein sicherer Beweis dafür, daß schon ihr gemeinsamer Vorfahr diese Anordnungen besessen hat; es kann aber daraus nicht geschlossen werden, daß die von den Standardanordnungen durch Inversionen formal abzuleitenden übrigen Genanordnungen der genannten Chromosomenarme phylogenetisch sämtlich jüngeren Datums sind, und das gleiche gilt auch für diejenigen Chromosomenarme, die sich interspezifisch durch 1 oder 2 Inversionen voneinander unterscheiden (1L, 1R, 3L): Auch hier könnte der Inversionsstammbaum von jeder der bekannten Anordnungen beider Arten, unter Umständen auch von einer hypothetischen, verlorengegangenen Zwischenstufe seinen Ausgang genommen haben. Bei einem Unterschied von nur einem Inversionsschritt (1L und 3L) muß eine der beiden Anordnungen zum intraspezifischen Bestand der Stammform gehört haben; die Standardanordnung der anderen Art braucht ebenfalls keine Neuerwerbung zu sein. Auch einzelne der gegenwärtig vorkommenden intraspezifischen Inversionen mögen schon der Stammform angehört haben und erst nach der Artenaufspaltung in der einen oder der anderen Linie verlorengegangen sein.

Es wird bei der vorstehenden Argumentation von der Annahme ausgegangen, daß der Inversionspolymorphismus bereits eine Eigenschaft der gemeinsamen Vorfahren von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* gewesen ist; diese Vermutung könnte erst dann als bewiesen gelten, wenn es gelänge, zwischen den Genanordnungen der beiden Arten mehr als nur eine phylogenetische „Querverbindung“ je Chromosomenarm

aufzudecken, im einfachsten Falle also dann, wenn die beiden Arten zwei Genanordnungen je Chromosomenarm gemeinsam besäßen. Dies ist aber nirgends der Fall, wenn man vom Chromosom 1R absieht, wo *C. tentans* und *C. pallitividattus* neben der gemeinsamen Standardanordnung auch noch den Inversionskomplex 1—*k*1 und die Insertion „*Ins*“ 1R gemeinsam besitzen; doch sind letztere wahrscheinlich speziellen Selektionsbedingungen unterworfen. Auch bei den Schwesternarten *Drosophila pseudoobscura* und *D. persimilis*, deren 3. Chromosom mehr als 20 Inversionen aufweist, gibt es weder in diesem noch in den anderen Chromosomen mehr als eine den beiden Arten gemeinsam angehörende Genanordnung. Ähnliches gilt für andere cytologisch polymorphe Artenpaare der Gattung *Drosophila*, soweit sie bisher unter dem Gesichtspunkt der Chromosomenevolution genauer untersucht wurden (vgl. PATTERSON und STONE 1952). Subspezies, die wie *D. americana americana* und *D. americana texana* in der Natur frei bastardieren (PATTERSON, STONE und GRIFFEN 1942), machen hier naturgemäß eine Ausnahme.

Aus der Tatsache, daß sich die verschiedenen Genanordnungen der Chromosomen einer Spezies von den homologen Genanordnungen anderer, verwandter Spezies in der Regel nur monophyletisch ableiten lassen, kann geschlossen werden, daß die Evolution des intraspezifischen Chromosomenpolymorphismus, gemessen an den langen Zeiträumen der Artbildung, ziemlich rasch fortschreitet. Das populationsdynamische Gleichgewicht zwischen zwei relativ invertierten Genanordnungen eines Chromosoms beruht wohl meist auf dem höheren Selektionswert der Heterozygoten (vgl. Abs. 3). Man kann annehmen, daß von Zeit zu Zeit Inversionen mit anderen, besser adaptierten Allelen mutativ entstehen. Tritt eine solche Inversion einmal auf, so kann sie ein Heterosis-Gleichgewicht aus strukturellen Gründen am ehesten mit derjenigen der bereits vorhandenen Genanordnungen einstellen, aus welcher sie unmittelbar hervorgegangen ist, denn relativ zu der oder den anderen älteren Genanordnungen wäre sie doppelt oder auch mehrfach invertiert; das hätte, wenn sich die beiden Inversionen in ihrer Ausdehnung weit genug miteinander decken, eine Herabsetzung der Fertilität der Heterozygoten in beiden Geschlechtern zur Folge: Crossing-over in übergreifenden oder einander einschließenden Inversionen ergibt Gameten mit Duplikationen und deficiencies (vgl. STURTEVANT 1938). Nach dieser Hypothese, die in ähnlicher Fassung von NOVITSKI (1946) vertreten wird, verdrängt also eine neuauftretende Inversion in der Regel diejenige von 2 ursprünglichen Genanordnungen, die sich durch mehr als einen Inversionsschritt von ihr unterscheidet. Hieraus ergibt sich auch unmittelbar, weshalb die phylogenetische Querverbindung zwischen den homologen

Chromosomenarmen zweier Schwesternarten stets nur durch eine einzige (zuweilen hypothetische) Genanordnung herzustellen ist.

Die vorstehend skizzierte Situation scheint sich gegenwärtig in den Chromosomenarmen 1R und 3L von *C. tentans* anzubahnern: In beiden Chromosomenarmen gibt es neben der jeweiligen Standardanordnung zwei in der Ausdehnung einander ähnliche einfache Inversionen, die also relativ zueinander doppelt invertiert sind (vgl. Abb. 6 und 27); eine von beiden sollte demnach in solchen Populationen, wo alle drei Genanordnungen nebeneinander vorkommen, allmählich eliminiert werden. Die Häufigkeit von crossing-over in Heterozygoten *In*3L-1/*In*3L-2 wird noch geprüft. WALLACE (1953) hält es übrigens auch auf Grund anderer Überlegungen für unwahrscheinlich, daß drei Genanordnungen in einer Population koexistieren können, wenn zwei von ihnen relativ zueinander doppelt invertiert sind; seine Argumentation geht im Gegensatz zu der vorstehenden Hypothese von der Voraussetzung aus, daß die übergreifende Strecke nur kurz ist: In diesem Fall läßt Austausch mit der Standardanordnung in den jeweils nicht invertierten Bereichen den Aufbau zweiseitiger Heterosis-Gleichgewichte überhaupt nicht zu. Doch ist die Hypothese auf Grund der jetzt vorliegenden Befunde weder bewiesen noch widerlegt (LEVITAN und Mitarbeiter 1954). Daß drei Genanordnungen grundsätzlich miteinander im Gleichgewicht stehen können, haben schon die Untersuchungen DOBZHANSKYS (1947) an einer natürlichen Population („Mather“) von *Drosophila pseudoobscura* gezeigt; die dritte Genanordnung (*tree line*) ist aber hier von den anderen (*Standard* und *Arrowhead*) durch 3 bzw. 4 Inversionsschritte getrennt, so daß crossing-over in ihrem Bereich praktisch ausgeschlossen bleibt.

Inversionen entstehen vermutlich vorzugsweise dann, wenn eine zufällige Schleifenbildung die reziproke Verheilung zweier Brüche im gleichen Chromosom ermöglicht. NOVITSKI (1946) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bereits vorhandene Inversionen die Wahrscheinlichkeit für das Entstehen weiterer Inversionen ähnlicher Ausdehnung im gleichen Chromosomenbereich erhöhen sollten, weil sie bei Heterozygotie zwangsläufig zur Bildung von schleifenförmigen Paarungskonfigurationen führen. Mit dieser Hypothese ließ sich insbesondere die Häufung von Bruchstellen natürlicher Inversionen in bestimmten distalen und proximalen Regionen des Elements „C“ von *Drosophila athabasca* und *D. pseudoobscura* deuten. Die gleiche Erklärung trifft möglicherweise auch im Fall der Inversionen *In*(*t*)1R-1 und *In*(*t*)1R-2 bzw. *In*(*t*)3L-1 und *In*(*t*)3L-2 von *C. tentans* zu, die jeweils ungefähr die gleiche Ausdehnung besitzen. Die Häufung von Inversionsbruchstellen im distalen Abschnitt des Chromosomenarmes 2L mag den gleichen Grund haben.

Die Evolution der Chromosomen unterliegt nicht nur strukturellen Gesetzmäßigkeiten. Eine Erscheinung, die wohl überwiegend genetische Ursachen hat, ist die auffallend erhöhte strukturelle Variabilität einzelner Chromosomen eines Satzes, z. B. des 3. Chromosoms von *Drosophila pseudoobscura* oder des ihm homologen Elements C von *D. athabasca* (NOVITSKI 1947). Da eine erhöhte Bruchbereitschaft in diesen Fällen nicht nachzuweisen ist (HELPFER 1941), muß entweder ein spezieller cytologischer Mechanismus gefordert werden, der die Entstehung von Inversionen in bestimmten Chromosomen begünstigt — vgl. die vorstehend erwähnte Hypothese von NOVITSKI —, oder es können sich etwa auf der Basis der genetischen Konstitution eines bestimmten Chromosoms besonders rasch und einfach Heterosis-Gleichgewichte einstellen. Bei *Camptochironomus* ist ein extremer Unterschied in der strukturellen Variabilität der Chromosomenarme nicht festzustellen; aus dem Vergleich der beiden Arten geht aber hervor, daß die strukturelle Evolution im Falle der Chromosomen 2L und 4 wesentlich rascher fortgeschritten sein muß als in den übrigen Chromosomen. Dies hängt vielleicht damit zusammen, daß das Chromosom 2L normalerweise als genetisches Geschlechtschromosom fungiert (s. weiter unten). Neuentstandene Genanordnungen finden bei Koppelung mit den Geschlechtsfaktoren anscheinend bessere Bedingungen, sich durchzusetzen. Manche Arten von *Anopheles*, die als Culiciden wie die Chironomiden keine genetisch inerten bzw. heterochromatischen Y-Chromosomen besitzen, unterscheiden sich cytologisch überhaupt nur durch komplexe Inversionen im Geschlechtschromosom (FRIZZI 1951). Im Falle des 4. Chromosoms kann auf seine Sonderstellung in struktureller und wahrscheinlich auch genetischer Hinsicht verwiesen werden (BEERMANN 1952a; vgl. auch S. 229ff.).

Komplexe Genanordnungen, die sich durch zwei oder mehr Inversionsschritte von den übrigen Anordnungen eines Chromosomenarmes unterscheiden, ohne daß Übergangsformen existierten, stellen ein besonderes chromosomen-phylogenetisches Problem. Sieht man vom Chromosomenarm 3L ab, so treten komplexe Genanordnungen in der Gattung *Camptochironomus* nur in solchen Chromosomenarmen oder Chromosomen auf, die geschlechtsbestimmende Faktoren enthalten: Die doppelte, übergreifende Inversion *In(t)2L—k1* im Chromosomenarm 2L und die verschiedenen Varianten der komplexen Anordnung *In(t,p)1—k1* des Chromosoms 1 werden in den Zuchten regelmäßig vom Vater auf die Söhne vererbt, sind also genetische Y-Chromosomen. Es ist außerdem durch Kreuzungen nachgewiesen, daß bei allen ♂♂, welche die genannten Genanordnungen nicht besitzen, der oder die Geschlechtsfaktoren im Chromosomenarm 2L liegt bzw. liegen, auch bei den ♂♂ von *C. pallidivittatus* (vgl. BEERMANN 1955, Biol. Zbl., im

Druck). Komplexe Genanordnungen unterdrücken den Austausch viel wirksamer als einfache Inversionen und ermöglichen bei Koppelung mit dem dominanten Männlichkeitsfaktor den Aufbau von Genkombinationen, die überwiegend oder ausschließlich in der männlichen Linie vererbt werden und dort allein selektiven Wert besitzen. Wenn die strukturellen Zwischenstufen, über welche die genannten Komplexinversionen von der Standardanordnung abgeleitet werden, verloren gegangen sind, so kann das unter anderem daran liegen, daß sie einen größeren Prozentsatz Rekombination mit dem X-Chromosom zuließen. — Die außerordentlich häufige, 3fache übergreifende Inversion *Inf(p)3L-k1* im Chromosom 3L von *C. pallidivittatus* wird nicht geschlechtsgebunden vererbt; auch sie hat sich aber wohl deshalb schließlich durchgesetzt, weil sie den Austausch von genetischen Faktoren im Gegensatz zur einfach und zur doppelt invertierten Zwischenform besonders wirksam verhindert.

Eine der beiden Inversionen, durch welche sich *C. tentans* und *C. pallidivittatus* im Chromosomenschenkel 2R unterscheiden, ist lichtoptisch „terminal“, ähnlich wie z. B. die terminalen Inversionen bei *Drosophila ananassae* (KIKKAWA 1938) und *Sciara impatiens* (CARSON 1946). Elektronenoptische Untersuchungen (BEERMANN und BAHR 1954) haben erwiesen, daß distal von der letzten lichtmikroskopisch erkennbaren Querscheibe des Chromosomenarmes 2R im Abstande von etwa  $0,1\mu$  eine  $0,05\mu$  dicke, heterochromatische Scheibe als wirkliches „Telomer“ liegt; es besteht daher kein zwingender Grund, die genannte Inversion für wirklich terminal zu halten. Ähnliche Verhältnisse sind mit Sicherheit auch für die anderen Fälle von terminalen Inversionen anzunehmen; theoretisch ist diese Forderung schon lange erhoben worden (z. B. BAUER 1939, MULLER 1940).

Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Camptochironomus* sollen sich nach E. GOLDSCHMIDT (1942) die cytologischen Unterschiede der beiden von ihr gekreuzten *Chironomus*-Populationen („strains“) nicht von gewöhnlichen Inversionen, sondern in erster Linie von „minute rearrangements“ ableiten lassen, wie sie nach METZ und LAWRENCE (1938) für die cytologische Differenzierung einiger *Sciara*-Arten charakteristisch sind. Ähnliche strukturelle Kleinmutationen treten, wenn auch viel seltener, als Artunterschiede bei *Drosophila* auf (DOBZHANSKY und TAN 1936, HORTON 1939). In der chromosomal Evolution von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* haben sie sicher keine große Rolle gespielt, abgesehen allerdings vom 4. Chromosom, wo vor kurzem auch bei *Chironomus annularius* auffallende Mikrovarianten gefunden wurden (BEERMANN unveröffentlicht); auf die Sonderstellung des kurzen Chromosoms der *Chironomus*-Arten, das sich möglicherweise in langsamer Umwandlung zu einem vollständig heterochromatischen Element be-

findet, wurde schon verwiesen. Über die Entstehung und damit über die Natur aller dieser „minute rearrangements“ können im einzelnen vielfach nur Vermutungen angestellt werden; es scheint in vielen Fällen sicher — so bei einigen der in dieser Arbeit beschriebenen Kleimutationen des 4. Chromosoms —, daß neben Duplikationen, deficiencies und kurzen Inversionen auch Änderungen in der Ausprägung, speziell auch der Färbung der Scheiben eine Rolle dabei spielen.

Daß sich größere Inversionen in der Evolution einzelner Arten nicht durchgesetzt haben, kann cytogenetisch auf verschiedene Weise gedeutet werden. Es ist zunächst daran zu erinnern, daß Inversionsheterozygotie auf jeden Fall zu einer Herabsetzung der ♂-Fertilität führt (von den Spezialfällen *Drosophila* und *Sciara* abgesehen) und daß dieser Verlust wahrscheinlich nicht bei allen Organismen wirksam genug durch Heterosiseffekte (vielleicht auch durch gametische Selektion) kompensiert wird (vgl. auch PHILIP 1942). Es kann aber auch die Fertilität der ♀♀ beeinträchtigt werden, nämlich dann, wenn man eine Erhöhung der Chiasmenhäufigkeit annimmt: Wird neben einem Chiasma innerhalb einer heterozygoten Inversion ein zweites, spindelansatznahe, gebildet, so entstehen in der Hälfte aller Fälle Chromatinbrücken erst in der 2. Reifeteilung; damit erhalten maximal ein Viertel aller Oocyten einen aneuploiden Vorkern und können keine entwicklungsfähigen Zygoten liefern. Über die Chiasmenhäufigkeiten in den Oocyten von *Sciara ocellaris* und *reynoldsi* sowie von den *Chironomus*-Stämmen E. GOLDSCHMIDTS ist nichts bekannt. Daß schließlich das Vorherrschen struktureller Kleimutationen nicht als Ausdruck einer entsprechenden Mutabilität anzusehen ist, ist durch Bestrahlungsversuche hinreichend belegt (METZ und BOCHE 1939).

### 3. Zur Populationsgenetik der Inversionen von *C. tentans*.

Im Anschluß an die Erörterung der Chromosomenevolution der beiden *Camptochironomus*-Arten sollen hier einige populationsgeographische und -genetische Daten besprochen werden, die zum größten Teil in den Tabellen 2—14 zusammengefaßt und statistisch ausgewertet sind. Die Diskussion muß sich dabei auf *C. tentans* beschränken, da das geringe von *C. pallidivittatus* geprüfte Material nur ganz generelle Schlüssefolgerungen erlaubt.

Betrachtet man das gegenwärtige Verbreitungsbild der Genanordnungen von *C. tentans* — hier sind auch die brieflichen Angaben von ACTON und MAINX über englisches und österreichisches Material mit berücksichtigt —, so fällt zunächst auf, daß es wie in den westeuropäischen Populationen von *Drosophila subobscura* (STUMM-ZOLLINGER 1953) keine eigentlich endemischen Inversionen gibt, mit Ausnahme einzelner nur im Verband komplexer „Y“-Chromosomen (s. oben)

auftretender Strukturmutationen. Diese Beobachtung spricht für das relativ hohe Alter aller Genanordnungen, die in dem bisher untersuchten Lebensgebiet der Art die Grundlage des cytologischen Polymorphismus bilden; sie zeigt, wie gering — aus genetischen und strukturellen Gründen — die Chancen neu entstandener Inversionen sind, sich gegenüber den „bewährten“ Genanordnungen durchzusetzen.

Die Chromosomenarme 1R und 3L, die in Stockholm einen ausgeprägten Inversionspolymorphismus zeigen, sind in Plön mit nur einer Genanordnung vertreten, und umgekehrt zeigt der Chromosomenarm 1L in Stockholm keinen balancierten Dimorphismus (es sind nur Genanordnungen mit mehr als 10% Häufigkeit berücksichtigt); dementsprechend fehlen in Plön und in Stockholm bestimmte Inversionen. Merkwürdig ist die Beobachtung, daß die Inversionen  $In(t)3L-1$  und  $In(t)3L-2$  gerade in Plön so gut wie vollständig fehlen, obwohl durch den Kontakt mit dem skandinavischen Lebensraum einerseits und dem mittel- und westeuropäischen Raum andererseits die Möglichkeit dauernder Neuinfiltation besteht — denn in Schweden, Österreich und England sind die genannten Inversionen sehr häufig.

Veränderte genetische und ökologische Bedingungen können entweder zur völligen Aufhebung der Heterosis von Inversionsheterozygoten und damit zur Elimination einer der beiden Genanordnungen führen, oder, bei Bestehenbleiben des Heteroseffekts, durch Änderung der relativen Selektionswerte der Homozygoten Verschiebungen des Häufigkeitsverhältnisses der Inversionen verursachen (vgl. z. B. DOBZHANSKY 1947). Der zweite Fall ist bei den verglichenen Populationen von *C. tentans* in den Chromosomenarmen 2L, 2R und 3R verwirklicht; der Unterschied ist lediglich im Falle des Chromosomenarmes 3R nicht gesichert ( $P = 0,09$ ). Besonders auffallend ist die Differenz im Chromosom 2L ( $P = 10^{-6}$ ), wo sich die relativen Häufigkeiten der Standardanordnung und der Inversion  $In(t)2L-1$  von einer Population zur anderen völlig umkehren. Die relativen Häufigkeiten der Inversion  $In(t)4-1$  stimmen dagegen in Plön und Stockholm überein — sicher nur zufällig: denn hier wie in den anderen Fällen muß man damit rechnen, daß die gleichen Genanordnungen in verschiedenen Populationen auch ganz verschiedene Kombinationen von Allelen enthalten (vgl. DOBZHANSKY 1948).

Treten kurzfristige Schwankungen der Inversionsfrequenzen in ein und derselben Population auf, so müssen Änderungen des Milieus dafür verantwortlich gemacht werden, sofern nicht die mittlere Anzahl der in jeder Generation zur Fortpflanzung gelangenden Individuen so gering ist, daß zufällige Verschiebungen möglich werden; im Bereich der Plöner Fundorte dürfte die Gesamtzahl der Individuen von *C. tentans* aber wohl nur selten weniger als großenteilsmäßig  $10^6$  be-

tragen. *C. tentans* und *C. pallidivittatus* überwintern als Larven. Vom April bis in den Oktober hinein können nach der Wintergeneration noch 2—3 Generationen zur Fortpflanzung kommen, und damit ist die Möglichkeit zu jahreszeitlichen Schwankungen in der Zusammensetzung der Populationen gegeben. Vergleicht man die 4 Stichproben aus dem Plöner Bereich miteinander, so stimmen die Frequenzen der häufigen Genanordnungen in jedem der 6 Arme der langen Chromosomen völlig überein, obwohl die Proben zu verschiedenen Jahreszeiten und an verschiedenen Stellen gesammelt wurden (Plön 2 gehört einer Sommergeneration, die übrigen der Wintergeneration an). Während sich also bei den 3 großen Chromosomen der Bestand an Genanordnungen als konstant erweist, „reagiert“ das 4. Chromosom in der Plöner Population sehr deutlich auf Änderungen des Milieus: Die Unterschiede zwischen Plön 2 einerseits und Plön 1 bzw. Plön 4 andererseits sind statistisch gesichert (Tabelle 13a) und besagen, daß die Inversion *In(t)4—1* im Sommer doppelt so häufig wird wie im Winter. Vielleicht ist also die Temperatur der entscheidende ökologische Faktor, ähnlich wie es für die Häufigkeitsschwankungen mancher Inversionen des 3. Chromosoms von *Drosophila pseudoobscura* (DOBZHANSKY, l. c.) nachgewiesen ist.

Die statistisch nicht gesicherten Unterschiede in den Häufigkeiten der geschlechtsgebundenen Inversion *In(t)2L—k1* (Tabelle 6a) sind wahrscheinlich methodisch bedingt. Die Proben Plön 1 und Plön 3 wurden nicht sofort nach dem Einbringen in das Labor cytologisch verarbeitet; da sich die männlichen Larven zuerst verpuppen, entsteht bei längerer Aufbewahrung des Materials unter den Larven ein Weibchenüberschuß, und damit vermindert sich die relative Anzahl der untersuchten „Y“-Chromosomen, speziell also von *In(t)2L—k1*. Außerdem ist das Auftreten seltener Genanordnungen überhaupt größeren Zufallsschwankungen ausgesetzt, weil beim Absuchen kleiner Areale die Wahrscheinlichkeit, Geschwisteriere zu erhalten, relativ groß ist; jedes *Chironomus*-Gelege enthält rund 2000 Eier. Das gehäufte Auftreten der komplexen, sehr seltenen Inversionen *In(t)2L—k1a* und *In(t)2L—k2* in der Stichprobe Plön 3 kann in diesem Sinne deutet werden.

Die Erscheinung des balancierten Inversionspolymorphismus beruht formal-genetisch auf dem höheren Selektionswert der Heterozygoten. Wenn sich dieser Vorteil gegenüber den strukturell homozygoten Individuen bereits in der Embryonalentwicklung und in den ersten Larvenstadien als höhere Lebenserwartung manifestieren würde, und wenn man in den natürlichen Populationen Panmixie voraussetzt, so müßten die gefundenen Häufigkeiten der verschiedenen Genotypen von den in der nächsten Generation zu erwartenden Werten, die sich

nach der Formel von HARDY und WEINBERG — im einfachsten Falle:  $(p + q)^2$ ;  $q = 1 - p$  — aus den Häufigkeiten der Genanordnungen errechnen lassen, entsprechend abweichen. Tatsächlich beobachtet man bei *C. tentans* und *C. pallidivittatus* solche Abweichungen nicht, wenn man Larven des 4. Stadiums cytologisch untersucht (Tabelle 2 b—14 b). Das kritische Stadium, in welchem der Nachteil der Homozygoten wirksam wird, muß also in die Zeit während und nach der Metamorphose fallen. Das schließt nicht aus, daß sich die höhere Vitalität der balancierten Heterozygoten nicht auch schon früher bemerkbar macht. Unter Laborbedingungen scheinen sich die heterozygoten Larven z. B. stets schneller zu entwickeln als ihre homozygoten Geschwister; ein solcher Effekt kann in den Genotypen-Häufigkeiten natürlicher Larvenpopulationen kaum in Erscheinung treten, weil sich Altersklassen und möglicherweise auch Generationen weitgehend überschneiden.

Ein einziger Befund weicht zahlenmäßig von den nach der HARDY-WEINBERG-Formel berechneten Werten auffallend ab: In der Stichprobe Plön 3 liegen die Anzahlen der Homozygoten im Chromosomenarm 2R viel zu hoch, und die Anzahl der Heterozygoten ist entsprechend viel zu niedrig ( $P = 0,01$ ; Tabelle 8 b). In den übrigen Chromosomen finden sich keinerlei derartige Abweichungen; außerdem stimmen die relativen Häufigkeiten der beiden Genanordnungen von 2R in der Probe Plön 3 völlig mit den Werten der anderen Stichproben aus Plön überein. Da die lebenden Larven im Falle Plön 3 erst einige Wochen sich selbst überlassen blieben, bevor sie untersucht wurden, erscheint es plausibel, daß dieser Befund von „negativer Heterosis“ im Chromosom 2R auf echter positiver Heterosis der Heterozygoten beruht, die sich schneller verpuppt hatten als die strukturell Homozygoten.

Es muß schließlich noch darauf hingewiesen werden, daß die einfache Formel von HARDY und WEINBERG —  $(p + q + \dots + z)^2$ , wo bei  $p$ ,  $q$  usw. die relativen Häufigkeiten der Genanordnungen sind — zur Berechnung der zygotischen Erwartungswerte bei geschlechtsgebundener Vererbung selbstverständlich nicht angewendet werden kann. Dies gilt also in erster Linie für die Genanordnungen des Chromosomenarmes 2L von *C. tentans* und *C. pallidivittatus*; sie alle können einen absolut oder partiell X- bzw. Y-gebundenen Erbgang aufweisen und treten also nicht immer in beiden Geschlechtern gleich häufig a:f. Das eine Extrem wird durch die Inversion *In(t)2L-k1* dargestellt, deren Träger in der Natur stets ♂♂ waren und die in speziell daraufhin angelegten Kreuzungsexperimenten bisher keinen Austausch mit dem „X“-Chromosom gezeigt hat (ähnliches gilt wahrscheinlich auch für *In(t)2L-k1a*). Die andere Alternative repräsentiert die einfache Inversion *In(t)2L-1*; sie tritt in ♂♂ und ♀♀ auf und kann entweder das genetische X- oder das Y-Chromosom markieren, und Austausch

ist häufig. Nimmt man an, daß  $In(t)2L-I$  bei ♂♂ und ♀♀ der gleichen Population in ungefähr der gleichen Häufigkeit auftritt und daß dagegen  $In(t)2L-k1$  nur bei den ♂♂ vorkommt, so lassen sich aus den beobachteten Häufigkeiten  $p$ ,  $q$  und  $r$  ( $p + q + r = 1$ ) der 3 Genanordnungen  $St$ ,  $In-I$  und  $In-k1$  die in der nächsten Generation zu erwartenden Häufigkeiten der Genotypen berechnen nach der Formel:

$$\left[ \frac{p}{p+q} + \frac{q}{p+q} \right] \times \left[ (1-2r) \frac{p}{p+q} + (1-2r) \frac{q}{p+q} + 2r \right]$$

wobei die Ausdrücke in der linken Klammer die Häufigkeiten von  $St$  und  $In-I$  bei den ♀♀, die Ausdrücke in der Klammer rechts die Häufigkeiten von  $St$ ,  $In-I$  und  $In-k1$  bei den ♂♂ bedeuten. Die Häufigkeiten der Genotypen sind folgende:

$$St/St: \frac{1-2r}{(p+q)^2} p^2$$

$$St/In-I: \frac{1-2r}{(p+q)^2} 2pq$$

$$In-I/In-I: \frac{1-2r}{(p+q)^2} q^2$$

$$St/In-k1: 2r \frac{p}{p+q}$$

$$In-I/In-k1: 2r \frac{q}{p+q}$$

In dieser bzw. analoger Weise sind die Werte in Tabelle 6b berechnet worden, wobei für  $In(t)2L-k2$  geschlechtsgebundene Vererbung nicht angenommen wurde; bei der Seltenheit dieser Inversion spielt ein daraus unter Umständen resultierender Fehler keine Rolle.

Die vorstehend genannten Formeln sind zur Berechnung der Erwartungswerte selbstverständlich nur dann nicht zu umgehen, wenn das Geschlecht der Larven nicht von vornherein in der Statistik erfaßt wird. Bei *Camptochironomus* gelingt die Feststellung des Geschlechts nur bei bereits metamorphosierenden Larven (Vorpuppen) und ist bisher meistens unterblieben.

#### 4. Cytologisch erkennbare unilokale Mutationen in der intra- und transspezifischen Evolution.

Echte Genmutationen manifestieren sich gewöhnlich nicht sichtbar in der Struktur der Riesenchromosomen, und die intra- bzw. interspezifische genetische Variabilität, von welcher die Untersuchung der normalen Chromosomenmutationen nur eine ungefähre Vorstellung geben kann, wird erst im Kreuzungsexperiment erfaßt. Schon 1938 aber hat METZ auf einzelne Strukturunterschiede homologer Chromosomen eines *Sciara*-Bastards aufmerksam gemacht, die nicht wie die Mehrzahl solcher Inhomologien auf eine bloße, wenn auch geringfügige

Neuanordnung des genetischen Materials zurückzuführen waren, sondern „localized qualitative changes“ darstellen mußten. Handelte es sich bei diesen Mutationen um seltene Färbungs- und Ausprägungsvarianten einzelner Querscheiben, so ist mit dem Nachweis der unilokalen Entstehung der Strukturmodifikationen der Riesenchromosomen („puffs“, Balbiani-Ringe usw.) einerseits und der Nukleolen andererseits (BEERMANN 1952a) eine ganze Gruppe von genetisch auf einzelne Querscheiben beschränkten Strukturvarianten erfaßt worden, deren Untersuchung eher zu der Hoffnung berechtigt, auf cytologischem Wege einen direkten Einblick in die genetische Variabilität zu erlangen. Strukturell erkennbare Mutationen der Entstehungsorte von Strukturmodifikationen und Nukleolenmutationen können wie die „localized qualitative changes“ als echte unilokale Genmutationen aufgefaßt werden; ob und wie allerdings diese Mutationen auf den übrigen Phänotypus wirken, muß offen bleiben.

Unilokale Strukturmutationen der Chromosomen können nur in Heterozygoten eindeutig erkannt werden; homozygote An- oder Abwesenheit eines Balbiani-Ringes z. B. sind sehr häufig nur modifikatorisch bedingt. Fälle von heterozygoter Ausprägung einzelner Strukturmodifikationen der polytären Chromosomen von *C. tentans* wurden bereits früher (BEERMANN 1952a) genannt; weitere Fälle sind inzwischen nicht beobachtet worden, auch nicht bei *C. pallidivittatus*. Aber selbst bei den Bastarden der beiden Arten treten heterozygote Strukturmodifikationen nicht oder jedenfalls nicht häufiger als bei den reinen Arten auf. Man muß also folgern, daß der „Phänotypus“ der strukturell variablen Stellen der Chromosomen kein Indikator für die wirkliche genetische Variabilität der dort lokalisierten Gene ist. Es ist auf jeden Fall unwahrscheinlicher, daß die Loci, an welchen Strukturmodifikationen auftreten, in der Gesamtheit der Populationen beider Spezies stets jeweils nur ein und dasselbe Allel enthalten sollen; die letzte Entscheidung liegt hier indessen beim genetischen Experiment.

Von einem phänotypischen Effekt begleitet ist die unilokale Strukturmutation, die HSU und LIU (1948) bei einer chinesischen *Chironomus*-Spezies gefunden haben. Individuen mit homo- und heterozygotem „bulb“ sowie mit homozygoter „non-bulb“-Ausprägung kommen in den untersuchten Populationen nebeneinander in den bei balanciertem Polymorphismus zu erwartenden Zahlen vor; da der „bulb“ nicht erkennbar mit einer bestimmten Inversion gekoppelt ist, kann die Heterosiswirkung nicht auf mehreren balancierten Faktoren beruhen; sie muß im „bulb“-locus selbst entstehen.

Die zweite Gruppe von unilokalen Mutationen, welche sich bei vielen Chironomiden unmittelbar am cytologischen Bild erkennen lassen, sind Mutationen der Nukleolenbildungsstellen in euchromati-

schen Chromosomenabschnitten. Aus der Untersuchung der Bastarde von *C. tentans* und *C. pallidivittatus* folgt unmittelbar, daß es mehrere Chromosomenstellen sind, die auf dem Wege der Mutation die Fähigkeit erlangen und auch wieder verlieren können, Nukleolen zu bilden. Die an den 3 verschiedenen Nukleolenstellen der Bastarde akkumulierten Substanzen sind wahrscheinlich chemisch identisch, denn die 3 Nukleolen sehen im Präparat stets gleich aus und sind häufig miteinander verschmolzen. Gelegentlich gebildete Nebennukleolen dagegen unterscheiden sich morphologisch und in ihrem Verhalten sehr deutlich von den Hauptnukleolen.

Es scheint, daß die Nukleolenbildung als der einzige genphysiologische Prozeß, der sich in jeder Zelle des Individuums sichtbar manifestiert, potentiell eine Grundfunktion aller eu- und heterochromatischen Chromosomenloci ist (Chromosomenlocus = physiologische Einheit, die morphologisch einer Querscheibe oder Zwischenscheibe entspricht). Damit würden die Nukleolenmutationen eventuell als besondere Klasse von den gewöhnlichen Genmutationen abzugrenzen sein.

Eine dritte Klasse von Strukturmutationen schließlich, die nicht als gewöhnliche Chromosomenmutationen aufzufassen sind, sei hier nur anhangsweise erwähnt; Heterochromatinmutationen. Diese qualitativen und quantitativen Veränderungen der heterochromatischen Chromosomenteile spielen in der Evolution von *Camptochironomus* eine ganz untergeordnete Rolle. Die einzige auffällige Heterochromatinmutation wurde im Verband der kurzen terminalen Inversion *In(p)2L-k1* festgestellt; mit der Vermehrung des Heterochromatins hängt möglicherweise der phänotypische Effekt (Mutation „r“) dieser Inversion zusammen. Eine besondere Gruppe von Heterochromatinmutationen führt bei Chironomiden zur Heterochromatisierung und trommelartigen Anschwellung der Spindelansatzbereiche in den Riesenchromosomen (z. B. *C. Thummi*, *Glyptotendipes* usw., vgl. BAUER 1936); Mutationen dieser Art unterscheiden interessanterweise auch die beiden *Chironomus*-Arten, die E. GOLDSCHMIDT gekreuzt hat.

#### Zusammenfassung.

1. Die sympatrischen Arten *Chironomus* (*Camptochironomus*) *tentans* und *C. pallidivittatus* lassen sich im Laboratorium kreuzen. Gegenüber intraspezifischen Paarungen ist die Kopulationsbereitschaft herabgesetzt. Unterschiede im Bau des Genitalapparats erschweren das Zustandekommen normaler Kopulae; Sperma wird meist nicht oder nur in geringer Menge übertragen. In beiden Kreuzungsrichtungen erhält man von höchstens 10% der Paare eine Nachkommenschaft. In diesen Fällen ist aber stets nur ein Teil der Eier entwickelt; der Rest muß

seinem Verhalten nach als unbefruchtet bzw. unbesamt angesehen werden. In der Natur wurde 1 Bastardindividuum gefunden.

2.  $F_1$ -Zygoten beiderlei Geschlechts entwickeln sich normal. Die Bastarde sind morphologisch intermediär. Ihre Vitalität ist eher erhöht als vermindert.  $F_1$ -♂♂ und -♀♀ sind mit Partnern beider Elternarten und auch *inter se* frei kreuzbar und voll fertil. Die Trennung der beiden Arten in der Natur wird also allein durch sexuelle Isolation sichergestellt; entscheidend sind dabei anatomische und vermutlich auch ethologische Faktoren.

3. Die intra- und interspezifische Differenzierung des Karyotypus der beiden Arten beruht auf parakinetischen Inversionen. Die Unterschiede zwischen *C. tentans* und *C. pallidivittatus* und der jeweilige intraspezifische Bestand an Genanordnungen sind einzeln für jeden Chromosomenarm durch Gegenüberstellung der Chromosomenkarten veranschaulicht und im Text eingehend beschrieben. Die Darstellung gründet sich auf norddeutsches, schwedisches, englisches (ACTON, persönliche Mitteilung) und österreichisches (MAINX, persönliche Mitteilung) Material von *C. tentans* und auf norddeutsches Material von *C. pallidivittatus*.

4. Im Chromosomenarm 1R besitzen beide Arten die gleiche Standardanordnung. In den Armen 1L und 3L besteht der Unterschied zwischen den nächstverwandten Genanordnungen der beiden Arten in jeweils 1 Inversion, in den Armen 2R und 3R in jeweils 2 übergreifenden Inversionen. Die Chromosomen 2L und 4 sind nicht vollständig zu homologisieren; doch beruhen die Differenzen wahrscheinlich ebenfalls auf Inversionen, allerdings in größerer Anzahl. Bei Heterozygotie im Bastard ist die somatische Paarung der Homologen im allgemeinen normal, abgesehen von den erwarteten, strukturell bedingten Störungen.

5. Am intraspezifischen Polymorphismus haben alle Chromosomenarme Anteil, bis auf 3R bei *C. pallidivittatus*. Besonders zahlreiche Aberrationen zeigt Chromosom 2L. Neben einfachen Inversionen treten in den Chromosomen 2L und 3L zwei- oder mehrfache, übergreifende Inversionen auf. Vereinzelt finden sich auch kompliziertere Aberrationen, die unter anderem durch Duplikationen und mutative Veränderungen der Ausprägung der Querscheiben entstanden sein müssen. Strukturelle Kleimutationen sind im Chromosom 4 besonders häufig.

6. Eine als Y-Chromosom vererbte komplexe Inversion wird neu beschrieben; sie gehört im Gegensatz zu den übrigen geschlechtsgebundenen Inversionen nicht dem Chromosom 2L, sondern dem Chromosom 1 an und kommt bei beiden Arten vor.

7. An den verschiedenen Fundorten von *C. tentans* sind nicht immer die gleichen Chromosomenarme polymorph, so 1L nicht in Stockholm oder 1R und 3L nicht in Plön; im übrigen wechseln die Häufigkeiten

der verschiedenen Genanordnungen jedes einzelnen Chromosoms von Population zu Population. Endemische Inversionen treten nicht auf, von seltenen geschlechtsgebundenen Inversionen abgesehen. Am gleichen Standort zeigen nur die Genanordnungen des 4. Chromosoms von *C. tentans* jahreszeitliche Häufigkeitsschwankungen. Die gefundenen zygotischen Häufigkeiten stimmen mit den nach der Formel von HARDY und WEINBERG berechneten Erwartungswerten überein. Einzelne Abweichungen sprechen neben anderen Beobachtungen dafür, daß Heterosis-Effekte hauptsächlich während oder nach der Verpuppung wirksam werden.

8. *C. pallidivittatus* besitzt im Gegensatz zu *C. tentans* nur einen Nukleolus. Seine Bildungsstelle ist mit keiner der beiden Nukleolenu loci von *C. tentans* homolog. Dieser Unterschied manifestiert sich auch heterozygot in den Kernen der Astbastarde. Vermutlich können viele Chromosomenstellen durch Mutation die Fähigkeit zur Nukleolusbildung erlangen und sie durch Rückmutation wieder verlieren.

9. Strukturmodifikationen der Riesenchromosomen, insbesondere die Balbiani-Ringe, entstehen unter der Voraussetzung gleicher äußerer und innerer Bedingungen bei beiden Arten in der Regel den gleichen (homologen) Chromosomenstellen.

10. Kreuzungsergebnisse und cytologische Beobachtungen werden mit den entsprechenden Befunden an anderen Dipteren, insbesondere Drosophila, verglichen und eingehend besprochen. Daß Vitalität und Fertilität der Chironomus-Bastarde nicht vermindert sind, kann mit dem Fehlen von Geschlechtschromosomen und mit einer Adaptation an genetische Herterozygotie zusammenhängen. Die Evolution des Karyotypus wird unter den besonderen Aspekten des Inversionspolymorphismus zu deuten versucht.

#### Literatur.

- BAUER, H.: Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Speicheldrüsenchromosomen (Untersuchungen an den Riesenchromosomen der Dipteren II). Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 56, 239—276 (1936). — Die Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre 76, 309—322 (1939). — Chromosomen und Systematik bei Chironomiden. Arch. f. Hydrobiol. 40, 994—1008 (1945). — BAUER, H., u. W. BEERMANN: Die Polytänie der Riesenchromosomen. Chromosoma 4, 630 bis 648 (1952a). — Der Chromosomencyclus der Orthocladiinen (Nematocera, Diptera). Z. Naturforsch. 7b, 557—563 (1952b). — BEERMANN, W.: Chromosomenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organendifferenzierung von *Chironomus tentans* FABR. Chromosoma 5, 139—198 (1952a). — Chromosomenstruktur und Zeildifferenzierung in der Speicheldrüse von *Trichocadius vitripennis*. Z. Naturforsch. 7b, 237—242 (1952b). — Chromosomenpolymorphismus und Bastardierung zweier *Chironomus*-Arten. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Freiburg 1952. Zool. Anz. Suppl. 17, 290—295 (1953). — BEERMANN, W., and G. BAHR: The submicroscopic structure of the Balbiani-ring. Exper. Cell Res. 6, 195—201 (1954). — BUCK, A. DE, E. SCHOUTE

- u. N. H. SWELLENGREBEL: Cross-breeding experiments with Dutch and foreign races of *Anopheles maculipennis*. Riv. Malariaol. 13, 237—263 (1934). Zit. nach WHITE 1948. — CARSON, H. L.: The selective elimination of inversion dicentric chromatids during meiosis in the eggs of *Sciara impatiens*. Genetics 31, 95—113 (1946). — Interfertile sibling species in the willistoni-group of *Drosophila*. Evolution 8, 148—165 (1954). — COUSIN, G.: Sur la fécondité normale et les caractères des hybrides issus du croisement de deux espèces de Grylliidés (*Achaeta campestris* L. et *A. bimaculata* DE GEER). C. r. Acad. Sci., Paris 198, 853—855 (1941). — DOBZHANSKY, TH.: Studies on hybrid sterility. II. Localization of sterility factors in *Drosophila pseudoobscura* hybrids. Genetics 21, 113—135 (1936). — Chromosomal races in *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis* (in DOBZHANSKY and EPLING: Contributions to the genetics, taxonomy and ecology of *Drosophila pseudoobscura* and its relatives. Carnegie Inst. Publ. Washington 554, 47—144 (1944). — A directional change in the genetic constitution of a natural population in *Drosophila pseudoobscura*. Heredity 1, 53—64 (1947). — Genetics of natural populations. XVIII. Experiments on chromosomes of *Drosophila pseudoobscura* from different geographic regions. Genetics 33, 588—602 (1948). — DOBZHANSKY, TH., and C. C. TAN: Studies on hybrid sterility. III. A comparison of the gene arrangements in two species, *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila miranda*. Z. Vererbungslehre 72, 99—114 (1936). — DUBININ, N. P., M. N. SOKOLOV and G. G. TINIAKOV: Occurrence and distribution of chromosomal aberrations in nature. Nature 137, 1035—1036 (1936). — FOOT, K., and E. C. STROBELL: Preliminary note on the results of crossing two hemipterous species with reference to the inheritance of an exclusively male character. Biol. Bull. 24, 187—204 (1913). — FRIZZI, G.: Dimorfismo cromosomico in *Anopheles maculipennis messeae*. Sci. Genet. (Torino) 4, 79—93 (1951). — GOETHGEBER, A.: *Tendipedinae*. In LINDNER, Die Fliegen der palaearktischen Region. Stuttgart 1937. — GOLDSCHMIDT, E.: The pattern of salivary gland chromosomes in a hybrid in the genus *Chironomus*. J. Hered. 33, 265—272 (1942). — GRIFFEN, A. B.: Relationships in the *melanica* species group. Univ. Texas Publ. 1942, No 4228, 68—73. — HALDANE, J. B. S.: Sex-ratio and unisexual sterility in hybrid animals. J. Genet. 12, 101—109 (1922). — HELPER, R. G.: A comparison of X-ray induced and naturally occurring chromosomal variations in *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 26, 1—22 (1941). — HERTWIG, P.: Artbastarde bei Tieren. In Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. 2. Berlin 1936. — HORTON, I. H.: A comparison of the salivary gland chromosomes of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. Genetics 24, 234—243 (1939). — HSU, T. C.: The external genital apparatus of the male Drosophilidae in relation to systematics. Univ. Texas Publ. 1949, No 4920, 80—142. — HSU, T. C., and T. T. LIU: Microgeographic analysis of chromosomal variation in a Chinese species of *Chironomus* (Diptera). Evolution 2, 49—57 (1948). — JUDAY, C.: Quantitative studies on the bottom fauna in the deeper waters of Lake Mendota. Trans. Wisconsin Acad. Sci. Arts a. Lett. 20, 469—471 (1922). — KIKKAWA, H.: Studies on the genetics and cytology of *Drosophila ananaseae*. Genetica 20, 458—516 (1938). — LAVEN, H.: Reziprok unterschiedliche Kreuzbarkeit von Stechmücken (Culicidae) und ihre Deutung als plasmatische Vererbung. Z. Vererbungslehre 85, 118—136 (1953). — LEVITAN, M., H. L. CARSON and H. D. STALKER: Triads of overlapping inversions in *D. robusta*. Amer. Naturalist 88, 113—114 (1954). — MAINX, F., E. KUNZE u. Th. KOSKE: Cytologische Untersuchungen an Lunzer Chironomiden. Österr. Zool Z. 4, 33—44 (1953). — MALLOCH, J. R.: The Chironomidae, or midges, of Illinois, with particular reference to the species occurring in the Illinois river. Bull. Illinois State Lab. Nat. Hist. 10, 443—445 (1915). — MCCUNG, C. E.: The multiple chromosomes of *Hesperotettix* and *Mermiria*. J. of Morph. 29, 519—605 (1917). —

MECHELKE, F.: Reversible Strukturmodifikationen der Speicheldrüsenschmosomen von *Acriotopus lucidus*. Chromosoma 5, 511—543 (1953). — METZ, C. W., and R. D. BOCHÉ: Observations on the mechanism of induced rearrangements in *Sciara*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 25, 280—284 (1939). — METZ, C. W., and E. G. LAWRENCE: Preliminary observations on *Sciara* hybrids. J. Hered. 29, 179—186 (1938). — MULLER, H. J.: Bearings of the *Drosophila* work on systematics. In: The new systematics, ed. J. Huxley. Oxford 1940. — MULLER, H. J., and G. PONTECORVO: Recessive genes causing interspecific sterility and other disharmonies between *Drosophila melanogaster* and *simulans*. Genetics 27, 157 (1942). — NOVITSKI, E.: Chromosome variation in *Drosophila athabasca*. Genetics 31, 508—524 (1946). — PATTERSON, J. T., and W. S. STONE: Evolution in the genus *Drosophila*. New York 1952. — PATTERSON, J. T., W. S. STONE and A. B. GRIFFEN: Genetic and cytological analysis of the *virilis* species group. Univ. Texas Publ. 1942, No 4228, 162—200. — PHILIP, U.: An analysis of chromosomal polymorphism in two species of *Chironomus*. J. Genet. 44, 129—142 (1942). — RENNER, O.: Artbastarde bei Pflanzen. In Handbuch der Vererbungswissenschaft. Berlin 1929. — SADLER, W. O.: Biology of the midge *Chironomus tentans* FABRICIUS, and methods for its propagation. Cornell Univ. Agric. Exp. Stat. Mem. 1935, No 173, 1—24. — SHULL, A. F.: Inheritance in lady beetles. IV. The form of the chitinous male genitalia in crosses of the species *Hippodamia quinquesignata* and *H. convergens*. Genetics 31, 291—303 (1946). — STAIGER, H.: Der Chromosomendimorphismus beim Prosbanchier *Purpura lapillus*. Chromosoma 6, 419—474 (1954). — STONE, W. S.: The survival of chromosomal variation in evolution. Univ. Texas Publ. 1949, No 4920, 18—21. — STONE, W. S., and A. B. GRIFFEN: Changing the structure of the genome in *Drosophila melanogaster*. Univ. Texas Publ. 1940, No 4032, 208—217. — STUMM-ZOLLINGER, E.: Vergleichende Untersuchung über die Inversionshäufigkeit bei *Drosophila subobscura* in Populationen der Schweiz und Südwesteuropas. Z. Vererbungslehre 58, 382—408 (1953). — STURTEVANT, A. H.: Genetic studies on *Drosophila simulans*. I. Introduction. Hybrids with *Drosophila melanogaster*. Genetics 5, 488—500 (1920). — Essays on evolution III. On the origin of interspecific sterility. Quart. Rev. Biol. 13, 333—335 (1938). — STURTEVANT, A. H., and G. W. BEADLE: The relations of inversions in the X chromosome of *Drosophila melanogaster* to crossing over and disjunction. Genetics 21, 554—604 (1936). — STURTEVANT, A. H., and E. NOVITSKI: Sterility in crosses of geographical races of *Drosophila micromelanica*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.S.R. 27, 392—394 (1941). — THIENEMANN, A.: *Chironomus*. Die Binnengewässer, Bd. 20. Stuttgart 1954. — TOWNES, H. K.: The nearctic species of Tendipedini. Amer. Midland Nat. 34, 1—206 (1945). — WALLACE, B.: On coadaptation in *Drosophila*. Amer. Naturalist 87, 343—358 (1953). — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. Cambridge Univ. Press 1945. — WRIGHT, S., and TH. DOBZHANSKY: Genetics of natural populations. XII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 31, 125—156 (1946).

Dr. WOLFGANG BEERMANN, Zoologisches Institut der Universität,  
Marburg a. d. L., Ketzerbach 63.

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeressbiologie,  
Abteilung H. BAUER, Wilhelmshaven.

HOLOKINETISCHE CHROMOSOMEN  
BEI HAEMATOPINUS SUIS (ANOPLURA, HAEMATOPINIDAE).

Von

KLAUS BAYREUTHER.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Dezember 1954.)

Durch die Untersuchungen von DONCASTER und CANNON (1919) und HINDLE und PONTECORVO (1942) ist für *Pediculus corporis* eine vom Normalschema völlig abweichende Spermatogenese bekannt geworden, bei der die beiden haploiden Produkte der Reduktionsteilung fünf synchrone mitotische Teilungen durchlaufen und Cysten mit 64 Zellen bilden. Die sechste Teilung ist, soweit es die Plasmateilung betrifft, ungleich. Ein Tochterkern wird in einer kleinen Plasmaknospe abgeschnürt und degeneriert, während der andere mit der Hauptmasse des Plasmas ein normales Spermium ergibt, so daß schließlich in einer Cyste 64 Spermien und ebenso viele pyknотische Körper enthalten sind.

*Pediculus corporis* ♂♂, die mit 4000 r bestrahlt wurden, zeigen nach PONTECORVO (1944) überraschenderweise „no immediate harmful effect on all stages ranging from meiosis to mature spermatozoa“, und bei bestrahlten Tieren war die Spermienzahl in den Bündeln stets normal. Andererseits sollen aber Chromosomenmutationen durch die Bestrahlung hervorgerufen werden, wie es sich aus dem Nachweis dominanter Letalfaktoren in der F<sub>1</sub> ergäbe, und wie sie PONTECORVO (1944) kurz beschrieben hat. Wenn bei *P. corporis* monokinetische Chromosomen vorliegen würden, wie es von HINDLE und PONTECORVO (1942) angegeben wird, wären nach Röntgenbestrahlung in den „postmeiotischen“ Mitosen zumindest Chromatinbrücken und akinetische Fragmente zu erwarten, die sich cytologisch nachweisen lassen müßten; PONTECORVO (1944) macht aber solche Angaben nicht. Seine Beschreibung läßt vielmehr vermuten, daß *P. corporis* holokinetische Chromosomen besitzt.

Die Untersuchung der Spermatogenese der Schweinelaus *Haematopinus suis* L. hat gezeigt, daß zumindest für diese Art die Vermutung über das Vorhandensein holokinetischer Chromosomen zutrifft und daß sich auf dieser Basis die beobachteten Erscheinungen einfach deuten lassen<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. H. BAUER danke ich herzlich für seine vielseitige Hilfe bei dieser Arbeit.

Imagines und Larven der verschiedenen Stadien von *Haematopinus suis* wurden Schweinen im Wilhelmshavener städtischen Schlachthof abgesammelt. Zur Präparation der Gonaden wurde das Abdomen abgetrennt, dessen Inhalt sich in Ringerlösung leicht aus dem Chitin schälen lässt. Die freigelegten Gonaden wurden mit Alkohol-Eisessig (AE) 3:1 fixiert, in Karminessigsäure (KE) vorgefärbt und in Oricin-Eisessig-Milchsäure (OEM) gequetscht. Zur Darstellung der Plasmastrukturen dienten Ausstrichpräparate, die nach  $\text{OsO}_4$ -Bedämpfung (3 min) mit Alkohol-Eisessig fixiert und dann nach FEULGEN gefärbt wurden. Zum Auszählen der Spermien in den Bündeln und zur Kontrolle der Lageverhältnisse der Chromosomen wurden Schnittpräparate herangezogen. Fixierung: Bouin-Allen, Färbung: Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN.

Zur Auslösung von Chromosomenmutationen wurden Larven des 1. und 2. Stadiums mit 2000 r (180 Kv, 8 mA, 2 mm Al, 30 cm Abstand) bestrahlt; sie wurden dann einem nichtbefallenen Schwein angesetzt und ihre Gonaden nach 48 Std fixiert; früher fixierte Hoden bestrahlter Tiere wiesen keine Teilungsstadien auf.

### Befunde.

Die Chromosomenzahl von *Haematopinus suis* beträgt  $2n = 10$ . Diese Zahl wurde in somatischen Zellen beider Geschlechter (Abb. 1c, d), sowie in den primären Spermatogonien<sup>1</sup> (Abb. 1a) und den Oogonien (Abb. 1b) festgestellt. Vier Paare sind ungefähr gleichlang, das fünfte ist etwas länger (Abb. 1b, links oben außen). Ein heteromorphes Paar ist nicht vorhanden. Die Chromosomen sind in allen Geweben durch ihre ungeglättete, wollig aussehende Oberfläche gekennzeichnet (Abbildung 1a—d).

In der Metaphase der primären Spermatogonien sind die Chromosomen in ihrer ganzen Länge der Äquatorialplatte eingeordnet (Abb. 1a). Sie zeigen in Seitenansicht einen deutlichen Chromatidenspalt (Abb. 1f); eine weitere Unterteilung in Halbchromatiden ist weder in der Metaphase noch in der Anaphase zu erkennen. Primäre Einschnürungen, also Orte lokalisierter Kinetochoren, sind nicht vorhanden. Gegen ihre maskierte Anwesenheit spricht auch das mitotische Verhalten der Chromatiden. Sie weichen in der frühen Anaphase zunächst parallel auseinander, um später unter leichtem Vorauseilen ihrer Enden polwärts zu wandern (Abb. 1g, h). Die Spindelstrukturen konnten nicht befriedigend dargestellt werden. In der Telophase verschmelzen die Chromosomen und bilden einen retikulären Interphasekern mit einem kleinen Nukleolus; Chromocentren treten darin nicht auf. Die Interphasekerne vergrößern sich nur geringfügig.

Die auf einige Teilungen folgende Chromosomenreduktion in den primären Spermatogonien von *H. suis* weicht vom meiotischen Normaltypus stark ab. Aus dem retikulären Interphasekern differenzieren sich in der frühen Prophase fünf langgestreckte Chromatinfäden, die ähnlich

<sup>1</sup> Es wird hier die Terminologie angewandt, die WHITE (1945) vorgeschlagen hat. Vgl. S. 267.

wie die mitotischen Prophasechromosomen (vgl. Abb. 1e) keinen durchgehenden Längsspalt erkennen lassen, aber wesentlich dicker sind, wodurch sie sich auch deutlich von den Prophasechromosomen der auf die Reduktion folgenden haploiden Mitosen unterscheiden. Erst die Metaphasen (Abb. 2a, b) der Reduktionsteilung zeigen, daß durch Längspaarung der homologen Chromosomen Vierergruppen aus  $2 \times 2$  Längselementen, also Bivalente entstanden sind. Ein deutlicher Längsspalt ist aber ebenso wie in den vorhergehenden Mitosen nur in der Seiten-

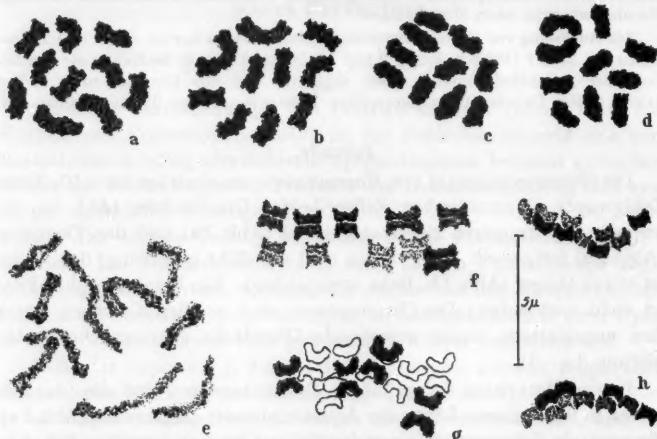


Abb. 1 a—h. a—d Metaphasen von a einem primären Spermatogonium, b einem Oogonium, c einer somatischen Zelle des ♂, d einer Folliklelepithelzelle des ♀, e Prophase eines primären Spermatogoniums (a—e Polansichten). f—h primäre Spermatogonen-Teilungsstadien in Seitenansichten, f Metaphase, g frühe, h späte Anaphase. AE, KE, OEM.

ansicht erkennbar. Die beiden durch den Spalt getrennten Hälften der Bivalente zeigen ihre Doppelnatür lediglich in der im optischen Querschnitt erkennbaren Einkerbung (Abb. 2b, die durch Pfeile bezeichneten Chromosomen). In der Anaphase treten die durch den in der Äquatorialebene liegenden Spalt getrennten beiden Hälften jedes Bivalents parallel der Länge nach auseinander. Eine verzögerte Trennung terminaler Bereiche in der frühen Anaphase (als ein mögliches Indizium für eine vorangegangene Chiasmabildung) konnte nicht beobachtet werden. In der späten Anaphase wandern die Enden der beiden Hälften polwärts voraus (Abb. 2c); alle fünf Bivalente teilen sich gleichzeitig.

Die Abkömmlinge der Reduktionsteilung, die sekundären Spermatozonen, machen dann eine Anzahl synchron verlaufender mitotischer Teilungen durch und bilden zuletzt Cysten aus 64 Zellen. Da aneinander grenzende Cysten fast ausnahmslos verschiedene Zell- bzw. Teilungs-

stadien aufweisen, ist anzunehmen, daß beide Abkömmlinge der Reduktionsteilung gemeinsam die Ausgangszellen für eine Cyste bilden. Um die in einer Cyste enthaltenen 64 Zellen entstehen zu lassen, wären demnach 5 mitotische Teilungsschritte nötig. Die Teilungsschritte folgen schnell aufeinander und werden nur durch kurze Interphasestadien unterbrochen. Die 5 Chromosomen in den auf die Reduktionsteilung folgenden Vermehrungsteilungen der sekundären Spermatogonien sind durch ihre geringe Größe von den Bivalenten deutlich zu unterscheiden. Sie sind wiederum in ihrer ganzen Länge der Äquatorialebene eingeordnet (Abb. 2d) und in der Metaphase deutlich in ihre Chromatiden gespalten



Abb. 2a—f. a Metaphase der Reduktionsteilung in Polansicht, b in Seitenansicht, c frühe Anaphase in Seitenansicht, d Metaphase einer Vermehrungsteilung der sekundären Spermatogonien in Polansicht, e in Seitenansicht, f Anaphase. AE, KE, OEM.

(Abb. 2e), die in der Anaphase zunächst parallel, später mit polwärts vorgezogenen Chromatidenden wandern (Abb. 2f).

Nach Ablauf der 5 Vermehrungsteilungen vergrößern sich die haploiden Zellen und nehmen eine langgestreckte ovale Form an (Abb. 3a); der abgeplattete Interphasekern liegt peripher im mittleren Teil der Zelle. In der dann folgenden letzten Teilung, die von den bisher beschriebenen abweicht, inäqual ist und als Reifeteilung bezeichnet werden kann, treten die Chromosomen stets in gleicher charakteristischer Anordnung in stark kontrahiertem Zustand aus dem Interphasekern hervor und legen sich enggepackt der Zellmembran an (Abb. 3a). Dabei sind 4 der 5 Chromosomen stets als zwei übereinanderstehende Zweiergruppen auf äquatorparallelen Ebenen zwischen den Zellpolen eingeordnet, während das fünfte dieser Gruppe seitlich anliegt (Abb. 4a). Die Chromatiden stehen jetzt nur noch in ihrem mittleren Abschnitt in Kontakt miteinander, während ihre Enden getrennt und zu den Polen hin vorgebogen sind, so daß die Chromosomen in der Seitenansicht die Form eines X oder H haben (Abb. 4a, b); die Chromatidenenden liegen parallel zur Zellängswand, die vereinigten mittleren Abschnitte sind im rechten Winkel dazu eingeordnet (Abb. 4a, b).

Zu Beginn der dann einsetzenden eigenartigen Bewegungsvorgänge geben die fünf Chromosomen ihre Gruppierung auf (Abb. 4 b), gleiten aneinander vorbei (Abb. 3 b, 4 c, d) und sind schließlich hintereinander entlang der Zellwand angeordnet (Abb. 3 e, 4 e). Gleichzeitig mit der Verschiebung erfolgt eine Streckung der Chromatidenpaare (Abb. 4 c), wobei die Chromatiden weit auseinander gezogen werden und schließlich nur noch durch einen dünnen fadenartigen Abschnitt, der zwischen den Chromatidenmittelteilen ausgespannt ist, verbunden sind (Abb. 4 d, e); dabei werden die Chromatidenenden stärker zu den Polen ausgezogen und kommen miteinander in Kontakt. Diese Vorgänge lassen sich wohl

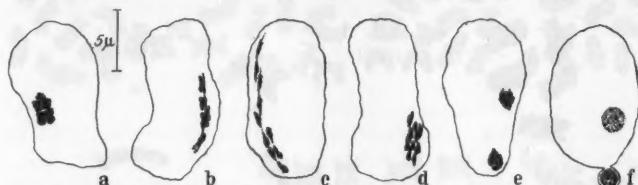


Abb. 3 a-f. Spindelwanderung während der inäqualen letzten Teilung der Spermatogonien in den Zellen. a Prophase, b einsetzende Spindelbewegung, c maximale Spindelbewegung und Chromosomenstreckung, d parallele Anordnung der Teilspindeln an einem Zellpol nach rückläufiger Bewegung, Metaphase, e Telophase, f Abschnürung eines Tochterkernes. AE, Feulgen, Ausstrich.

am einfachsten verstehen, wenn angenommen wird, daß keine gemeinsame Spindel ausgebildet ist, sondern jedes Chromosom eine eigene Teilspindel besitzt und diese Spindeln sich aneinander vorbeischieben und jede für sich strecken können. Damit erklärt sich auch die Beobachtung, daß innerhalb einer Zelle häufig alle Übergänge der Chromatidenstreckung zu finden sind (Abb. 4 d); ihr Maximum ist in Abb. 4 e dargestellt. Die wandernden Teilspindeln passen sich dem Verlauf der Zellmembran an (Abb. 3 b, c); eine Verformung oder Streckung der Zelle erfolgt nicht.

Nach maximaler Chromatidenstreckung (Abb. 3 c, 4 e) wandern die Chromosomen (also wohl die Teilspindeln) wieder zusammen und ordnen sich nahe einem Zellpol parallel zueinander ungefähr in gleicher Höhe an (Abb. 4 f, g, 3 d). Erst dieses Stadium entspricht wahrscheinlich der Metaphase. Darauf folgt die Anaphase. Die Chromatinfäden, die die Chromatiden zusammenhalten, zerreißen (Abb. 4 h), und die getrennten Chromatiden wandern polwärts (Abb. 4 i), um in der Telophase zu verschmelzen (Abb. 4 k). Im Bereich der dem Zellpol anliegenden Telophasegruppe wird eine Plasmaknospe vorgestülpt, in die der Tochterkern einwandert (Abb. 3 f). Die Knospe wird in der späten Telophase abgeschnürt; ihr Kern wird pyknotisch (Abb. 4 l). Der andere Tochterkern mit der Hauptmasse des Plasmas stellt die Spermatide dar. Nach

Beendigung der Spermatohistogenese enthält jede Cyste ein Bündel aus 64 Spermien, zwischen deren Schwänzen die 64 pyknotischen Knospenzellen als rundliche Körper eingebettet sind.

Die weitgehende Übereinstimmung im morphologischen Bild wie auch im Bewegungsverhalten der Chromosomen mit den Verhältnissen, wie sie bei Organismen mit holokinetischen Chromosomen vorliegen,

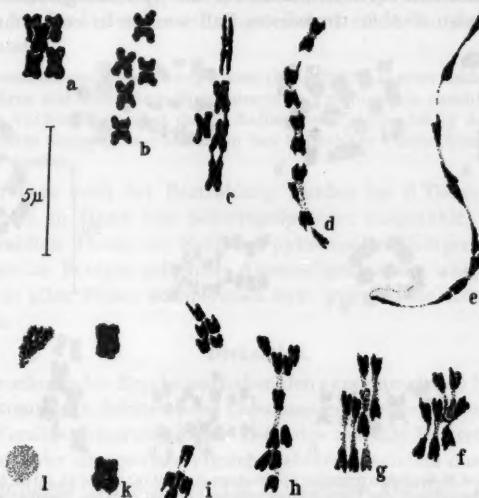


Abb. 4 a-l. Teilspindelwanderung und Chromosomenstreckung während der äquatoralen letzten Teilung der sekundären Spermatogonien. a, b die Chromosomen lösen sich voneinander, c vier Teilspindeln sind übereinander angeordnet, beginnende Chromosomenstreckung in der oberen Teilspindel, d alle Übergänge der Chromosomenstreckung, e maximale Chromosomenstreckung, f, g Metaphase, nach rückläufiger Bewegung der Teilspindeln, h frühe Anaphase, i späte Anaphase, k Telophase, l der Knospenkern wird pyknotisch. a-l Seitenansicht. AE, KE, OEM.

lässt bereits darauf schließen, daß *H. suis* ebenfalls holokinetische Chromosomen besitzt. Der Beweis hierfür kann jedoch erst dann als erbracht gelten, wenn ein normales Mitoseverhalten von experimentell erzeugten Chromosomenfragmenten nachgewiesen ist, wie es erstmalig HUGHES-SCHRADER und RIS (1941) getan haben.

Solche Fragmente wurden nach Röntgenbestrahlung von Larven des 1. und 2. Stadiums von *H. suis* angetroffen. In Abb. 5a-d sind fragmentierte Chromosomen in Metaphasen der primären Spermatogonien dargestellt; eine gesetzmäßige Beziehung zwischen Größe der Fragmente und Lage in der Äquatorialplatte besteht nicht. Chromosomen und Fragmente wandern in geschlossenen Anaphaseplatten und erreichen die Pole

gleichzeitig. Bei der angewandten Dosis (2000 r) sind die Fragmente so zahlreich und klein, daß es bei der dichten Lagerung in den Platten meist unmöglich ist, ihre Anzahl genau zu bestimmen; fast stets wurden weit über 20 Fragmente gesehen, neben denen natürlich auch noch ganze Chromosomen vorhanden sein konnten. Ob alle Fragmente auf Chromosomenbrüche zurückzuführen sind, oder ob sie auch als Folge von Chromatidenbrüchen auftreten, kann für die Spermatogonienteilungen nicht entschieden werden. In keinem Fall wurden in vorgeschrittenen

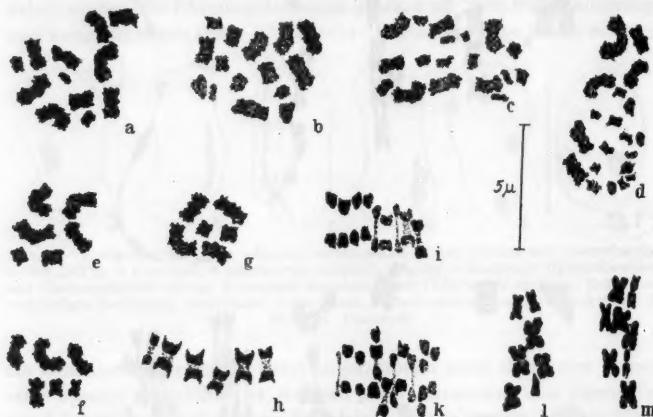


Abb. 5 a—m. a—d Metaphasen primärer Spermatogonien mit (a) 12, (b) 15, (c) 18, (d) 20 Fragmenten; e—g Metaphasen der Vermehrungsteilungen der sekundären Spermatogonien mit einem Bruch in einem Chromosom; a—g in Polansicht. h—k Anaphasen der Vermehrungsteilungen mit (h) 6, (l) 9, (m) 12 Fragmenten; l, m beginnende Spindelbewegung während der letzten inäqualen Teilung, Zellen mit (l) 7, (m) 8 Fragmenten. h—l Seitenansicht.  
AE, KE, OEM.

Anaphasestadien in der Äquatorialebene liegengebliebene Fragmente beobachtet.

Auch in den Vermehrungsteilungen der haploiden Spermatogonien treten Fragmente auf, allerdings in wesentlich geringerem Prozentsatz. Meistens waren nur 1 oder 2 Chromosomen fragmentiert (Abb. 5e—g); niemals enthielten alle Zellen einer Cyste die gleiche Anzahl von Fragmenten, und stets war ein Teil von ihnen ganz normal. Alle Fragmente waren, soweit sich das bei ihrer geringen Größe überhaupt mit Sicherheit sagen läßt, aus zwei gleichlangen Chromatiden aufgebaut, müssen also, da die 1. Teilung nach der Bestrahlung erfaßt worden ist, auf einem beide Chromatiden gleichzeitig und (mindestens ungefähr) an der gleichen Stelle treffenden Doppelbruchereignis beruhen. In den Anaphasen der fünf haploiden Vermehrungsteilungen weichen die

Chromatiden der Fragmente parallel auseinander (Abb. 5h). Gelegentlich bleiben sie durch später reißende Chromatinfäden verbunden und hinken dadurch zunächst in der Anaphasebewegung nach (Abb. 5i, k). Es wurde kein Fall beobachtet, in dem Fragmente in der Anaphase ausgestoßen wurden. In der Reifeteilung machen die Fragmente alle für diese Teilung charakteristischen prometaphasischen Formveränderungen und Bewegungen mit (Abb. 5l, m), um sich später normal zu teilen. Niemals wurden in den Vermehrungsteilungen echte Chromatidenbrücken beobachtet.

Während bei steigender Röntgendiffusivität (200—2000 r) in einer wachsenden Anzahl der primären und sekundären Spermatogonien Fragmente in zunehmender Anzahl gefunden wurden, kann über das Verhalten von Fragmenten in der Reduktionsteilung nichts ausgesagt werden, da in den bestrahlten Tieren diese Stadien nicht gefunden wurden.

Zehn Tage nach der Bestrahlung wurden bei 6 Tieren je 50 Spermienbündel an Hand von Schnittpräparaten ausgezählt, bei weiteren 15 bestrahlten Tieren die Zahl der pyknotischen Körper innerhalb je 40 Cysten an Feulgen-gefärbten Ausstrichpräparaten ausgewertet. Es wurden in allen Fällen 64 Spermien bzw. pyknotische Körper je Cyste gefunden.

#### Diskussion.

Die vorliegenden Ergebnisse haben den experimentellen Nachweis für das Vorkommen holokinetischer Chromosomen bei den Läusen erbracht. In der Verallgemeinerung dieses Befundes auf alle Vertreter der Anopluren ist zwar eine gewisse Vorsicht geboten, nachdem das sporadische Auftreten dieses Chromosomentyps in einzelnen Familien, z. B. bei den Chilopoden (OGAWA 1953), oder noch engeren systematischen Kategorien z. B. in der Pflanzengattung *Luzula* der Familie der *Juncaceae* (MALHEIROS, CASTRO und CAMARA 1947) bekannt geworden ist. Doch dürfte andererseits ihr Auftreten in der nahe verwandten Ordnung der Mallophagen (SCHOLL 1955) und in einer Reihe von anderen Insektenordnungen (Zusammenstellung bei LIMA-DE-FARIA 1949), sowie die in mehrfacher Hinsicht den hier mitgeteilten Befunden entsprechenden Ergebnisse PONTECORVOS (1944) für eine allgemeine Verbreitung des holokinetischen Chromosomentyps bei den Anopluren sprechen.

Nach den Angaben von HINDLE und PONTECORVO (1942) sowie den älteren Befunden von DONCASTER und CANNON (1919) an *P. corporis* ist der hier vorkommende Spermatogenesemodus von WHITE (1945) in bestimmter Weise gedeutet worden: Er nimmt an, daß bei den Läusen, ähnlich wie im männlichen Teil der hermaphroditischen Gonade von der Schildlaus *Icerya purchasi* (HUGHES-SCHRADER 1927) die Chromosomenreduktion in der Keimbahn um einige Zellgenerationen in die Spermatogonien zurückverlegt worden ist und bezeichnet erst die letzte,

inäquale Teilung in den Hodencystern als eigentliche meiotische Teilung, etwa in Analogie zu den Verhältnissen bei den Bienen ♂♂, bei denen die sogenannte 2. Reifeteilung auch unter Abstoßung eines Abortivkernes verläuft. Diese Deutung WHITES ist durchaus möglich; zu vermeiden wäre lediglich die Bezeichnung „meiotische“ Teilung für die letzte, inäquale Mitose, denn das Wort meiotisch ist eben für die Zahlenreduktion der Chromosomen geprägt worden, die im Falle der Anopluren früher erfolgt ist.

Mit dem Nachweis der holokinetischen Natur der Chromosomen der Läuse ist bei der Diskussion allerdings noch ein anderer Aspekt zu berücksichtigen. Für einige Organismen mit holokinetischen Chromosomen ist beschrieben worden, daß die 1. meiotische Teilung äquationell und die 2. reduktionell verläuft<sup>1</sup> (RIS 1942, OKSALA 1943, MALHEIROS, CASTRO und CAMARA 1947, HUGHES-SCHRADER 1948, OGAWA 1953). Es könnte also sein, daß auch in der Spermatogenese der Läuse die erste Teilung, die der Chromosomenpaarung folgt, äquationell ist und die Reduktion, die Trennung der homologen Partner erst später erfolgt. Entweder könnte sie dann entsprechend den oben zitierten Fällen echter Meiosen in der unmittelbar anschließenden haploiden Mitose stattfinden, oder, wie auch denkbar ist, sie wird dadurch, daß die gepaarten Chromosomen sich in jeder der folgenden Teilungen nach ihren neugebildeten Teilungsspalten trennen, also eine Art konjugierter Teilungen durchlaufen, bis zu der letzten, inäqualen Teilung aufgeschoben, die dann eine echte Reduktionsteilung darstellen würde.

Die letzte Annahme erhält durch einen Zufallsbefund eine gewisse Stütze. Unter dem geprüften natürlichen Material von *H. suis* fand sich ein Individuum, welches in allen primären Spermatogonienteilungen neben 10 Chromosomen normaler Größe ein unpaares kleines Element enthielt. Dieses überzählige Chromosom, über dessen Herkunft nichts ausgesagt werden kann, muß in allen ersten Haploidteilungen des Individuums äquationell geteilt worden sein, da es in sämtlichen Mitosen der sekundären Spermatogonen (in insgesamt 16 Cysten) wieder auftrat und auch stets weiter äquationell geteilt wurde. Das Auftreten des Überzähligen in allen Zellen einer Cyste spricht gegen die Annahme, daß die erste Haploidteilung reduktionell sei, da dann nur in der Hälfte der Zellen Überzählige zu erwarten wären. Leider waren die inäqualen letzten Teilungen noch nicht im Gange, so daß nicht geprüft werden konnte, ob das überzählige Element hier reduktionell verteilt wird. Die einzige Alternativerklärung dafür, daß bei diesem Individuum niemals

<sup>1</sup> Diese Aussage über den Reduktionsmodus gilt natürlich nur für die Chromosomenabschnitte proximal vom ersten Chiasma, wobei die Kennzeichnung proximal-distal sich aus der Terminalisationsrichtung (nach distal hin) ergibt.

sekundäre Spermatogonien ohne überzählige Elemente gefunden wurden, würde in der unwahrscheinlichen Annahme liegen, daß das eine Produkt der dann als reduktionell anzunehmenden 1. Haploidteilung — und zwar immer die Zelle ohne überzähliges Element — degeneriert. Pyknotische Zellen wurden nicht angetroffen.

Gegen diese Argumentation läßt sich natürlich einwenden, daß das meiotische Verhalten eines überzähligen Elements nicht unbedingt als Indikator für den Teilungsmodus der anderen Chromosomen gelten kann; möglicherweise hat sich in diesem Fall nur das überzählige Element regelmäßig äquationell geteilt. Auch die cytologischen Einzelheiten der Paarung (der Aufbau der Bivalente aus 4 parallel gelagerten Chromatiden und das Fehlen von Chiasmen) lassen einen unmittelbaren Vergleich mit der echten Meiose bei Organismen mit holokinetischen Chromosomen nicht zu.

Es kann daher eine Entscheidung zwischen den hier zur Diskussion gestellten Möglichkeiten auf dem jetzigen Stand nicht gefällt werden. Hierfür muß vor allem noch das Verhalten experimentell erzeugter unpaarer Chromosomenfragmente in der ersten und der letzten Haploidteilung an größerem Material geprüft werden.

#### Zusammenfassung.

1. *Haematopinus suis* L. hat in beiden Geschlechtern  $2n = 10$  Chromosomen. Vier Paare sind ungefähr gleichlang, das fünfte ist etwas länger; ein heteromorphes Paar ist nicht vorhanden.

2. Die Spermatogenese weicht vom Normalschema stark ab. Am Ende der Vermehrungsphase der primären, diploiden Spermatogonien erfolgt eine Chromosomenpaarung, deren Einzelprozesse nicht zu verfolgen sind. Die 5 Bivalente lassen den Aufbau aus 4 parallel liegenden Chromatiden erkennen. Die beiden aus der 1. Teilung nach der Paarung hervorgehenden haploiden Tochterzellen machen 5 synchrone mitotische Vermehrungsteilungen durch und bilden Cysten mit 64 Zellen. Die anschließende 6. Teilung ist inäqual; ein Tochterkern wird mit einer kleinen Plasmaknospe abgeschnürt und degeneriert; der andere ergibt mit der Hauptmasse des Plasmas ein normales Spermium, so daß schließlich in einer Cyste ein Bündel von 64 Spermien und 64 pyknotische Körper enthalten sind.

3. Das Teilungsverhalten der Chromosomen in den primären und sekundären Spermatogonien, sowie das Fehlen primärer Einschnürungen, ließen vermuten, daß *H. suis* holokinetische Chromosomen besitzt. Das mitotisch normale Verhalten röntgeninduzierter Fragmente liefert den experimentellen Beweis für das Vorliegen dieses Chromosomentypus.

## Literatur.

- DONCASTER, L., and H. G. CANNON: On the spermatogenesis of the louse (*Pediculus corporis* and *P. capitis*), with observations on the maturation of the egg. Quart. J. Microsc. Sci. **64**, 303—328 (1919). — HINDLE, E., and G. PONTECORVO: Mitotic divisions following meiosis in *Pediculus corporis* males. Nature (Lond.) **149**, 668 (1942). — HUGHES-SCHRADER, S.: Origin and differentiation of the male and female germ cells in the hermaphrodite of *Icerya purchasi* (Coccoidae). Z. Zellforsch. **6**, 509—540 (1927). — Cytology of coccids (Coccoidea, Homoptera). Adv. Genet. **2**, 127—203 (1948). — HUGHES-SCHRADER, S., and H. RIS: The diffuse spindle attachment of coccids verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. J. of Exper. Zool. **87**, 429—456 (1941). — LIMA-DE-FARIA, A.: Genetics, origin and evolution of kinetochores. Hereditas (Lund) **35**, 422—444 (1949). — MALHEIROS, N., D. CASTRO e A. CAMARA: Chromosomas sem centromero localizado. O caso da *Luzula purpurea* LINK. Agron. Lusitana **9**, 51—71 (1947). — OGAWA, K.: Chromosome studies in the Myriapoda. V. A chromosomal survey in some Chilopoda with a cyto-taxonomic consideration. Jap. J. Genet. **28**, 12—18 (1953). — OKSALA, T.: Cytologische Studien an Odonaten. III. Die Ovogenese. Ann. Acad. Sci. fenn. Ser. A, IV, **9**, 1—32 (1943). — PERROT, J. L.: La spermatogénèse et l'ovogénèse du Mallophage *Goniodes stylifer* Quart. J. Microsc. **76**, 353—377 (1934). — PONTECORVO, G.: Synchronous mitosis and differentiation, sheltering the germ track. D. I. S. **18**, 54—55 (1944). — RIS, H.: A cytological and experimental analysis of the meiotic behaviour of the univalent X chromosome in the bearberry aphid *Tamalia* (= *Phyllaphis*) *coveni* (CKLL.). J. of Exper. Zool. **90**, 267—322 (1942). — SCHOLL, H.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese der Mallophagen. Chromosoma **7**, 271—274 (1955). — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. Cambridge Univ. Press 1954.

KLAUS BAYREUTHER, Wilhelmshaven,  
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg.

Aus dem Zoologischen Institut Heidelberg und dem Max-Planck-Institut  
für Meeresbiologie, Abt. H. BAUER, Wilhelmshaven.

EIN BEITRAG ZUR KENNTNIS DER SPERMATOGENESE  
DER MALLOPHAGEN.

Von

HANS SCHOLL.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Januar 1955.)

Die Chromosomenverhältnisse der Federlinge sind noch kaum bekannt. Außer einer beiläufigen Angabe über die Chromosomenzahl in den Oocyten von *Lipeurus baculus*, die RIESS gelegentlich einer anders gerichteten Arbeit mitgeteilt hat, liegt nur eine Untersuchung von PERROT (1934) über *Goniodes stylifer* vor. Nach ihm ist in der Oogenese das Verhalten der Chromosomen normal. Dagegen findet er in den als Spermatogonien angesprochenen Zellen im Hoden nur die haploide Chromosomenzahl; nach Ablauf der Vermehrungsteilungen folgt auf ein Wachstumsstadium eine inäquale mitotische Reifeteilung, aus der eine abortive Plasmaknospe und eine Spermatide hervorgehen. PERROT konnte keine schlüssige Deutung dieser eigenartlichen Spermatogenese geben. Erst WHITE (1945) hat auf ihre Ähnlichkeit mit der Spermatogenese der Läuse hingewiesen und vermutet, daß bei beiden Gruppen der gleiche aberrante Spermatogenesetypus vorliege. Nachdem BAYERREUTHER (1955) die Cytologie von der Schweinelaus *Haematopinus suis* genauer bearbeitet hat, wurde parallel dazu versucht, bei einem geeigneten Mallophagen das Chromosomenverhalten aufzuklären.

Von 5 geprüften Arten von Meerschweinchen, Huhn und Taube erwies sich nur der Meerschweinparasit *Gyropus ovalis* NITZSCH als brauchbar. Die anderen Arten besitzen winzige Chromosomen in hoher Anzahl ( $n > 10$ ), deren Untersuchung keine sicheren Aufschlüsse versprach.

Zur Präparation von *Gyropus* wurde das abgeschnittene Abdomen ausgedrückt und der Inhalt mit Alkohol-Eisessig fixiert, in dem dann die 6 Hodenbläschen freipräpariert wurden. Sie wurden in Karminessigsäure gefärbt und in üblicher Weise als Quetschpräparate in Euparal eingeschlossen. Die Untersuchung erfolgte mit Phasenkontrastoptik.

Die haploide Chromosomenzahl von *Gyropus ovalis* beträgt 2. In den Hoden jüngerer Individuen finden sich einzeln auftretende diploide Zellen, die die primären Spermatogonien darstellen. Sie weisen, besonders deutlich in den späten Prophasen (Abb. 1a), 2 Paare längenverschiedener Chromosomen auf. Der Mitoseverlauf entspricht dem bei Tieren mit holokinetischen Chromosomen bekannten; er gleicht besonders auch im Grad der Chromatidenkontraktion dem von *Haematopinus*

*suis (BAYREUTHER).* In der Anaphase wandern die Tochterchromosomen anfangs parallel auseinander, doch werden die Chromosomenenden schon bald polwärts vorgezogen (Abb. 1 b—e).

Häufiger als diese diploiden Mitosen sind in den Hoden haploide Teilungen anzutreffen. Ihr Ablauf (Abb. 1 f—g) gleicht völlig dem der

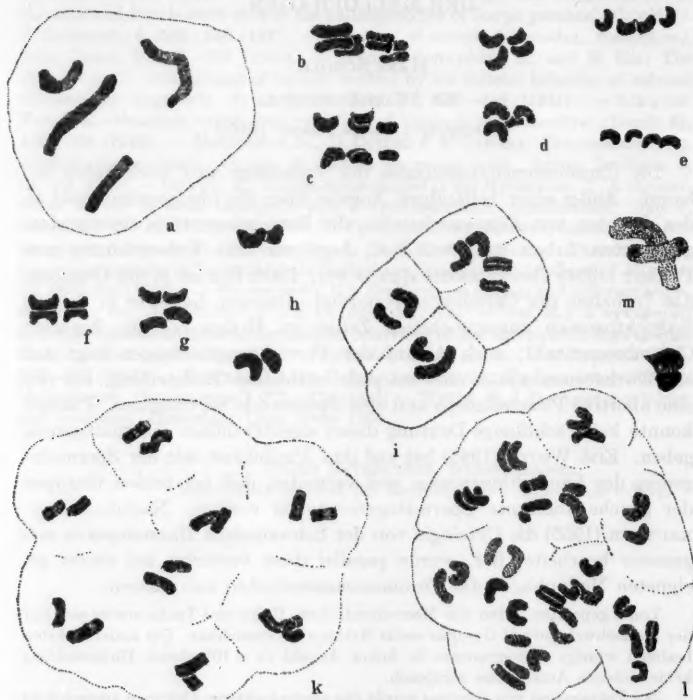


Abb. 1 a—l. a—e primäre Spermatogonien, a mittlere Prophase, b—d Seitenansichten von b Metaphase, c früher, d mittlerer, e später Anaphase. f—l sekundäre Spermatogonien, f—h Mitosestadien in Seitenansichten, f Metaphase, g frühe, h späte Anaphase, i—l Zellnester in Metaphase mit i 4, k 8, l 16 Zellen. m Telophase der inäqualen Teilung. a, m etwa 4200  $\times$ , b—l etwa 2500  $\times$ .

primären Spermatogonien. Sie finden synchron statt (Abb. 1 i—l), wobei schließlich Zellnester aus 32 Zellen entstehen. Diese haploiden Zellen müssen die sekundären Spermatogonien darstellen. Die Reduktionsmitose, aus der sie hervorgehen, konnte als solche nicht erkannt werden.

Nach der letzten äqualen haploiden Mitose wachsen die Zellen heran und bilden ein kugelförmiges Mitochondrienaggregat aus, wie sich in

Lebendpräparaten gut erkennen ließ. Dasselbe hat auch PERROT an Schnittpräparaten festgestellt. Nach Abschluß dieses Zellwachstums durchlaufen die Zellen eine inäquale Teilung, wobei eine der beiden Tochterplatten in einer nahezu cytoplasmafreien Knospe abgeschnürt wird. Sie kondensiert sich stark (Abb. 1 m) und bildet dann eine pyknotische Kugel. Aus einer Cyste mit 32 sekundären Spermatogonien entstehen also durch die letzte inäquale Teilung 32 Spermatiden und 32 pyknotische Körper (Abb. 2), die während der Spermienbildung allmählich degenerieren.

Die dargestellten Befunde lassen erkennen, daß die Parallele im Ablauf der Spermatogenese und im Chromosomenverhalten bei *Gyropus*

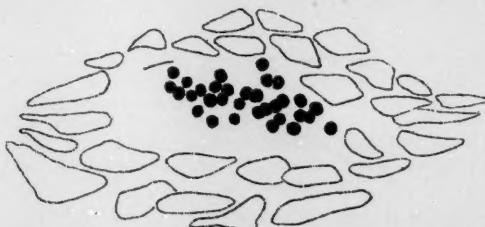


Abb. 2. 32 pyknotische Körper in einer Cyste, etwa 1900 ×.

und bei *Haematopinus* vollständig ist. Beide besitzen holokinetische Chromosomen. Wenn auch für *Gyropus* der experimentelle Beweis dafür nicht geführt werden konnte<sup>1</sup>, so belegt doch die Art des Mitoseablaufs diese Aussage genügend. Weiterhin liegt sowohl bei *Haematopinus* wie bei *Gyropus* die gleiche aberrante Spermatogenese vor, bei der die Chromosomenzahlenreduktion in die spermatogoniale Phase verlegt ist und an Stelle der beiden meiotischen Teilungen am Ende der Keimzellenentwicklung nur eine inäquale Mitose vorkommt.

BAYREUTHER hat es für die Anopluren wahrscheinlich gemacht, daß der besondere Spermatogenesestypus ein Kennzeichen der ganzen Gruppe ist. Daß er auch allgemein bei den Mallophagen vorkommt, läßt sich aus der Übereinstimmung der Beschreibung PERROTS von *Goniodes* mit der von *Gyropus* vermuten. Der einzige Unterschied zwischen den beiden Mallophagen besteht in der Anzahl der haploiden Teilungen, die *Gyropus* um eins geringer als bei *Goniodes* ist. Jedenfalls hat die Untersuchung von *Gyropus* die Vermutung WHITES über die Deutung des Chromosomenzyklus im Mallophagen-♂ voll bestätigt. Es wäre von

<sup>1</sup> Röntgenbestrahlte Tiere, die einem durch DDT parasitenfrei gemachten und zur Entfernung des Kontaktgiftes mehrfach warm gebadeten Meerschweinchen angesetzt waren, ließen sich nach 2 Tagen nicht wiederfinden. Umfangreichere Versuche dieser Art konnten nicht durchgeführt werden.

großem Interesse, zu wissen, ob bei der die 3. Unterordnung der *Phthiraptera* darstellenden Elefantenlaus (*Haematomyzus elephantis*) die gleichen Verhältnisse vorliegen und die ganze Ordnung somit auch cytologisch einheitlich gekennzeichnet ist.

#### Zusammenfassung.

*Gyropus ovalis* besitzt  $n = 2$  Chromosomen. Die primären Spermatozonen sind diploid, die sekundären haploid. Ihre synchrone Teilung führt zu 32zelligen Cysten. Die letzte Teilung ist eine inäquale Mitose und liefert 32 Spermatiden und 32 pyknotisch werdende Zellknospen. Der Spermatogenesetypus ist derselbe wie der der Anopluren.

#### Literatur.

BAYREUTHER, K.: Holokinetiche Chromosomen bei *Haematopinus suis* (Anoplura, *Haematopinidae*). Chromosoma 7, 260—270 (1955). — PERROT, J. L.: La spermatogénèse et l'ovogénèse du malophage *Goniodes stylifer*. Quart. J. Microsc. Sci. 76, 353—377 (1934). — RIES, E.: Die Prozesse der Eibildung und des Eiwachstums bei Pediculiden und Mallophagen. Z. Zellforsch. 16, 314—388 (1932). — WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution. Cambridge: Univ. Press 1945.

HANS SCHOLL, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven.

